UNTERSUCHUNGEN ZUR CIRCADIANEN RHYTHMIK DER THROMBOCYTENFUNKTION

Claus-Wilhelm Vagt

1983

Aus dem Zentrum der Inneren Medizin

der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main

Abteilung für Angiologie

(Leiter: Professor Dr. med. K. Breddin)

Untersuchungen zur circadianen Rhythmik der Thrombocytenfunktion

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin

des Fachbereiches Humanmedizin

der Johann Wolfgang Goethe-Universität

Frankfurt am Main

vorgelegt von

Claus-Wilhelm Vagt

aus Frankfurt am Main

Frankfurt am Main 1983

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan : Prof. Dr. med. H.J. Müller

Referent : Prof. Dr. med. K. Breddin

Korreferent : Prof. Dr. med. A. Encke

Tag der mündlichen Prüfung : 18.10.83

Druck: Dipa - Druck, 6000 Frankfurt, Tel. 55 61 88

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1.	EINLEITUNG	1
2.	METHODIK	3
2.1.	Zeitabhängiger Formwandel der Thrombocyten im Citratplasma bei 37°C	3
2.2.	Photometrischer Plättchenaggregationstest nach Breddin (PAT III)	8
2.3.	Untersuchung der kollageninduzierten Aggregation im Citratblut	12
2.4.	Bestimmung der Thrombocytenzahl	16
2.5.	Bestimmung der β-Thromboglobulinkonzentration im Venenblut	18
2.6.	Probandenkollektiv	23
2.7.	Zeitliches Vorgehen bei der Untersuchung	23
3.	ERGEBNISSE	24
3.1.	Zeitabhängiger Formwandel der Thrombocyten im Citratplasma bei 37°C	24
3.2.	Photometrischer plättchenaggregationstest nach Breddin (PAT III)	31
3.3.	Untersuchung der kollageninduzierten Aggregation im Citratblut	37
3.4.	Bestimmung der Thrombocytenzahl	43
3.5.	Bestimmung der β-Thromboglobulinkonzentration im Venenblut	47
4.	DISKUSSION	51
5.	ZUSAMMENFASSUNG	58
6.	ANLAGE: Computergedruckte Wertetabellen	59
7.	LITERATURVERZEICHNIS	71

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41523704_0010

E I N L E I T U N G

Circadiane Rhythmen sind in eukaryontischen Organismen ubiquitär. Man findet sie in höheren Tieren einschließlich Menschen und Pflanzen ebenso wie bei Einzellern (SCHWEIGER H. G. 1978). Auch an Einzelzellen von Vielzellern konnten Tagesschwankungen der Zellfunktionen aufgezeigt werden. (ROTHMANN B. S. und STRUMWASSER F.1977)
In der nachstehenden Arbeit wird untersucht, ob auch bei menschlichen Thrombocyten und deren Funktion eine Tagesperiodik nachweisbar ist.
Solche Tagesrhythmen sind bei einigen physiologischen Funktionen seit langem bekannt, genannt seien hier die Schwankungen der Körpertemperatur und der Pulsfrequenz.
Auch bei der Bestimmung der Plasmakonzentration des Cortisols sowie einer Reihe weiterer Hormone (Aldosteron, Prolaktin, Wachstumshormon, Testesteron und andere) wurde eine ausgeprägte Tagesrhythmik nachgewiesen. (LOMMER I D. et al. 1976 und TRÄGER L. 1977)
Es konnte gezeigt werden, daß eine solche Rhythmik unabhängig von Außeneinflüssen und Zeitsignalen weiterbesteht, und somit auf endogenen Prozessen beruht. (ASCHOFF J. 1962 und WEVER R.1969)
Treten nun wie bei den oben genannten Hormonen Änderungen der Plasmakonzentration im Tagesver-

lauf auf, bedeutet dies, daß experimentelle Ergebnisse nur dann miteinander vergleichbar sind, wenn sie in der gleichen circadianen Phase erhoben wurden. Bezogen auf die Thrombocytenfunktion stellt sich somit die Frage, ob nächtliche Untersuchungsergebnisse, z.B. bei Patienten mit hämorrhagischer Diathese, mit den am Tage gewonnenen Routineergebnissen vergleichbar sind, oder ob auch hier eine circadiane Rhythmik berücksichtigt werden muß.
Im Bereich der Therapie konnte gezeigt werden, daß gleiche therapeutische Maßnahmen unterschiedliche Ergebnisse erzielen, wenn sie auf verschiedene circadiane Phasen treffen.(Aschoff, J. 1978) So konnte tierexperimentell nachgewiesen werden, daß die Letaldosis durch den circadianen Rhythmus bis zum Faktor 1:100 beeinflußt wird. (GILLMANN H. 1979)
Bestehen auch bei der Blutgerinnung Tagesschwankungen, so hätte dies nicht nur Auswirkungen auf die Vergleichbarkeit von Laborwerten, sondern auch auf die Dosierung im Tagesverlauf applizierter gerinnungsbeeinflussender Medikamente. Es würde ein verbesserter Therapieerfolg durch zeitgerechte Anwendung resultieren.
Ziel der vorliegenden Arbeit ist es zu untersuchen, ob bei gesunden Probanden eine Schwankung der Thrombocytenfunktion , verteilt auf sieben Blutentnahmen über 24 Stunden vorliegt, und ob diese Schwankungen im Sinne einer circadianen Rhythmik interpretiert werden können.

2. METHODIK

2. 1. Zeitabhängiger Formwandel der Thrombocyten im Citratplasma bei 37°C.

Material

1. Sterile Einmalkanüle Nr. 1.1
2. 10 ml Kunststoffspritze
3. Natriumcitratlösung 3.8%ig
4. Polystyrolröhrchen mit einem Fassungsvermögen von 12 ml.
5. 6%iger Glutaraldehyd gepuffert mit Sörensen-Phosphatpuffer auf pH 7.4 als Fixationsmittel
6. Thermostabilisiertes Wärmebad (37°C)
7. Leitz Laborlux Mikroskop mit Interferenzkontrasteinrichtung, Vergrößerung 1250fach
8. Glasobjektträger mit Deckgläschen
9. Immersionsöl
10. MSE-Zentrifuge Highspeed 18

Ausführung

In drei Polystyrolröhrchen mit einem Fassungsvermögen von 12 ml wird 6%iger auf pH 7.4 gepufferter Glutaraldehyd gefüllt. In ein Röhrchen, beschriftet mit " 0 Min.-Wert " werden 8 ml, in die beiden verbleibenden Röhrchen mit der Aufschrift " 5 Min.-Wert " und " 15 Min.-Wert " werden je 4 ml 6%iger Glutaraldehyd pipettiert. 15 Minuten vor Beginn der Blutabnahme werden diese drei Röhrchen und ein weiteres leeres Röhrchen in das Wasserbad gegeben und auf 37°C erwärmt.

Mit einer sterilen Einmalkanüle Nr. 1.1 werden ca. 2 ml Venenblut direkt in das Polystyrolröhrchen mit den 8 ml vorgewärmten Glutaraldehyd und der Aufschrift "0 Min.-Wert" aufgefangen. Danach werden 9 ml Venenblut in eine Kunststoffspritze aufgezogen, in der sich bereits 1 ml einer 3.8%igen Natriumcitratlösung befindet. Bei der Blutabnahme wird darauf geachtet Schaumbildung und Gewebssaftbeimischung zu vermeiden.

Der Spritzeninhalt wird sofort durchmischt, und das Blut in das vorgewärmte leere Röhrchen gefüllt. Aus diesem werden dann nach weiteren 5 Minuten und nach 15 Minuten jeweils 1 ml Citratblut abpipettiert und in die beiden Röhrchen mit jeweils 4 ml vorgewärmten 6%igen Glutaraldehyd hinzugegeben. Zur besseren Durchmischung des Citratblutes mit dem Fixationsmittel wird das Röhrchen sofort mit Parafilm verschlossen und vorsichtig geschwenkt.

Die so gewonnenen Präparate werden anschließend 1.5 Minuten mit 100 g bei Zimmertemperatur zentrifugiert. Die Überstände werden in neue Plastikröhrchen gefüllt und mit Parafilm verschlossen. Da die Thrombocytenformen nun irreversibel fixiert sind, können die Präparate im Kühlschrank gelagert werden, und die Auszählung am Mikroskop muß nicht sofort vorgenommen werden.

Zur Beurteilung des Formwandels werden 10 µl des plättchenreichen Plasmas auf einen Objektträger gegeben und unter dem Interferenz-Kontrastmikroskop bei 1250 facher Vergrößerung ausgewertet.

Auswertung

Die mikroskopisch nicht einheitlich aussehenden Thrombocyten lassen sich in zwei Gruppen einteilen, nämlich in die primär formveränderten und in die nicht formveränderten Plättchen.

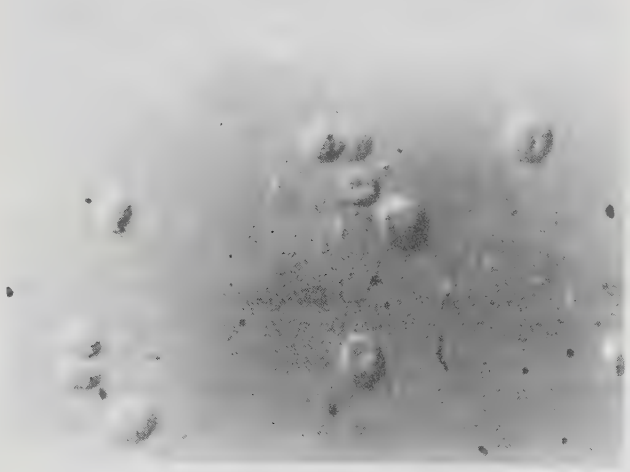


Abb. 1 Nicht formveränderte Thrombocyten stellen sich als flache, runde bis ovale Strukturen mit glattkonturierter Oberfläche und unveränderter Scheibenform dar. Nur vereinzelt sind Fortsätze zu erkennen. Vergr. 1250x.

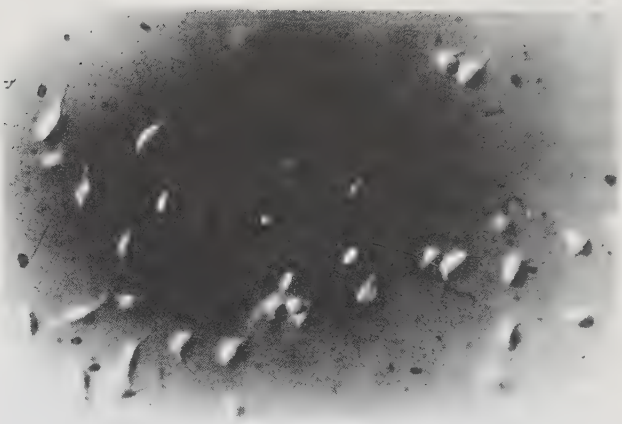


Abb. 2 Formveränderte Thrombocyten zeigen über den Rand der Thrombocytenstruktur herausragende Fortsätze, sogenannte Pseudopodien. Sie sind oft gequollen und weisen bizarre Formen auf, die von der runden Struktur der nichtformveränderten Plättchen deutlich abweichen. Vergr. 1250X.

Nach der Auszählung von je 200 Thrombocyten pro Probe wird die Anzahl der primär Formveränderten in Prozent angegeben.

Fehlermöglichkeiten

Bei zu langsamer Blutentnahme oder ungenügender Durchmischung des Blutes mit dem Antikoagulanz kann es zur Teilgerinnung der Probe kommen. Durch Beimischung von

Gewebssaft oder Schaumbildung in der Spritze kann es zu mechanischen Schädigungen der Plättchen kommen. (BAMBERG et al. 1978)
Durch Unterschreiten des Verhältnisses von Fixationsmittel und Blut (4:1) kann ein Teil der Thrombocyten nicht sofort fixiert sein, und ein zu hoher Prozentsatz an formveränderten Plättchen resultieren. Vermehrte Formveränderung kann auch durch zu niedrige Temperatur des Fixationsmittels ($< 37^{o}C$) und durch zu großen Zeitabstand zwischen der Blutentnahme und der Fixation bedingt sein. (RUBEL, 1978)

2. 2. Photometrischer Plättchenaggregationstest nach Breddin (PAT III).

Material

1. Sterile Einmalkanüle Nr.1.1
2. 10 ml Kunststoffspritze
3. Natriumcitratlösung 3.8%ig
4. Polystyrolröhrchen mit einem Fassungsvermögen von 12 ml
5. MSE-Zentrifuge Highspeed 18
6. Photometer Eppendorf
7. Kompensationsschreiber
8. Universalaggregometer der Firma Braun-Melsungen AG
9. Scheibenküvette mit einem Innendurchmesser vom 18 mm und einer Schichtdicke von 8 mm
10. Lochblende mit einem Durchmesser von 2 mm zur Begrenzung des Lichtstrahls
11. Filter : 546 mm des Eppendorf Photometers

Ausführung

Venenblut wird mit einer sterilen Einmalkanüle (1.1) ineine 10 ml Kunststoffspritze aufgezogen, in der sich 3.8%ige Natriumcitratlösung befindet. Nach der Abnahme wird das Blut sorgfältig mit dem Antikoagulanz durchmischt und in ein Plastikröhrchen aus Polystyrol ge-

füllt. Danach wird die Blutprobe 1.5 min lang mit 150 g zentifugiert. Der dabei gewonnene Überstand wird als plättchenreiches Plasma (PRP) in ein neues Kunststoffröhrchen pipettiert. 90 Minuten nach der Blutentnahme wird das PRP in dem Plastikröhrchen vorsichtig durchmischt, um eine gleiche Thrombocytenkonzentration in der Probe zu erhalten. Nun wird die Scheibenküvette mit 0.6 ml PRP gefüllt und in die vorgewärmte Rotationstrommel des Aggregometers eingeführt. (s. Abb. 3) Die Ausgangsextinktion des Photometers wird auf 0.9 eingestellt, die Rotationstrommel in Bewegung gesetzt und der Kompensationsschreiber eingeschaltet. Der Schreiber zeichnet nun die aggregationsbedingte Extinktionsänderungen fortlaufend auf.

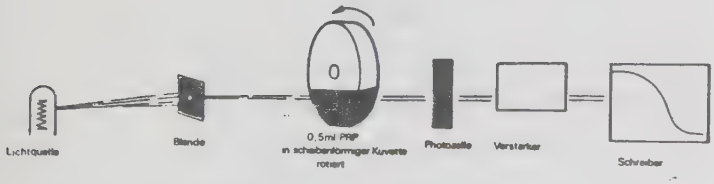


Abb. 3 Prinzip des photometrischen Plättchenaggregationstest (PAT III)

Auswertung

Die Abb.4 zeigt die Parameter, die bei der Auswertung beim Plättchenaggregationstest III erfaßt werden. (BREDDIN, 1975)

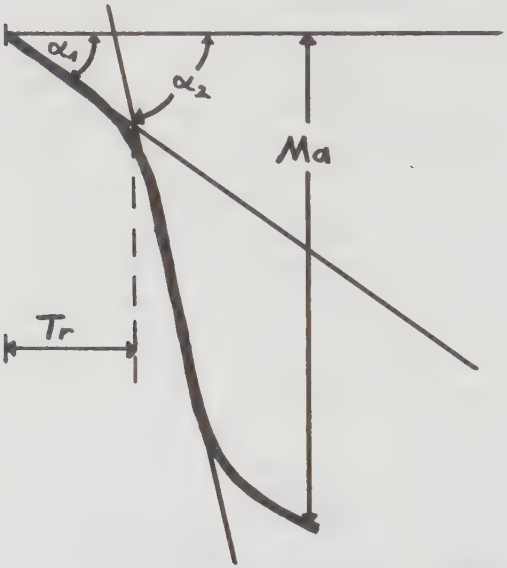


Abb. 4 Auswertung der PAT III Kurve

α_1: Winkel gebildet aus der Waagrechten und der Tangente zu der beim Start der Rotation relativ flach verlaufenden Transmissionskurve bis zum Beginn der maximalen Aggregation.
Der Winkel α_1 ist das Maß für die " primäre Aggregation ".
Bei fehlender Aggregation ist $\alpha_1 = 0$.

α_2 : Winkel gebildet aus der Waagrechten und der Tangente zum steilsten Teil des Kurvenabfalls als Maß für die maximale Aggregatiomsgeschwindigkeit.
Bei fehlendem α_2 ist nur eine " primäre Aggregation " nachweisbar.
Je größer α_2 umso größer ist die maximale Aggregationsgeschwindigkeit.

Tr : Reaktionszeit vom Beginn der Rotation bis zum Beginn der maximalen Aggregation. Gemessen wird vom Kurvenbeginn bis zum Schnittpunkt der die Winkel α_1 und α_2 bildenden Tangenten.
Bei Kurven die nach 10 Minuten Laufzeit keinen Winkel α_2 aufzeigen, wird Tr mit 10 Minuten angenommen.

Ma : Maximalamplitude als Differenz der Ausgangsextinktion und der minimalen Extinktion. Die Maximalamplitude wird als Extinktionsänderung abgelesen, wobei die Null vor dem Komma generell weggelassen wird. Die Maximalamplitude hängt, abgesehen vom Ausmaß der Aggregation, weitgehend von der Ausgangstrübung des Plasmas und der Plättchenzahl ab.

Fehlermöglichkeiten

Unkorrekte Blutentnahme kann zu teilweiser oder völliger Aggregation führen.
Trübung des PRP bei Lipämie, sowie die Anwesenheit von Erythrocyten, bedingt eine zu geringe Änderung der optischen Dichte und damit deformierte Aggregationskurven.

2. 3. Untersuchung der Kollagen induzierten Aggreation im Zitratblut.

Material

1. Sterile Einmalkanüle Nr. 1.1
2. 10 ml Kunststoffspritze
3. Natriumcitratlösung 3.8%ig
4. Polystyrolröhrchen mit einem Fassungsvermögen von 12 ml.
5. MSE-Zentrifuge Highspeed 18
6. Photometer Eppendorf
7. Kompensationsschreiber
8. Universalaggreometer der Fa. Braun-Melsungen
9. Kunststoffröhrchen mit einem Außendurchmesser von 11 mm.
10. Lochblende mit einem Durchmesser von 2mm zur Begrenzung des Lichtstrahls.
11. Filter: 546 mm des Eppendorf Photometers
12. Eppendorf-Pipette (10 ml)

Ausführung

Venenblut wird mit einer sterlen Einmalkanüle (1.1.) in eine 10 ml Kunststoffspritze aufgezogen, in der sich 3.8%ige Natriumcitratlösung befindet. Nach der Abnahme wird das Blut sorgfältig mit dem Antikoagulanz durchmischt und in ein Plastikrörchen aus Polystyrol gefüllt. Nun wird die Blutprobe 1.5 min lang mit 150 g zentrifugiert. Der dabei

gewonnene Überstand wird als plättchenreiches Plasma (PRP) in ein neues Kunststoffröhrchen pipettiert. 60 min nach der Blutentnahme wird das PRP in dem Plastikröhrchen vorsichtig durchmischt, um eine gleiche Thrombocytenkonzentration in der Probe zu erhalten. Nun wird das Meßröhrchen mit PRP gefüllt und in den vorgewärmten für die Fassung des Meßröhrchens vorgesehenen Halterungsblock des Photometers eingeführt. Dieser Halterungsblock wird über einem Thermostaten auf einer konstanten Temperatur gehalten (37°C). Jetzt wird der teflonbeschichtete Rührmagnet in das Röhrchen eingegeben. Der Rührmagnet wird durch einen drehzahlstabilisierten Motor mit 800 UPM angetrieben. Zur Ausführung der Aggregationsmessung wird nach Einschalten des Rührmagnets mit einer Eppendorf-Pipette 10 ml der Kollagensuspension dem PRP zugegeben.
Die Kollagen-Suspension (Fa. Hormon-Chemie, München) wurde entsprechend der Endkonzentration 1 χ/ml PRP mit dem vom Hersteller zur Verfügung gestellten Puffer verdünnt und im Kühlschrank zwischen Eiswürfeln aufbewahrt.
Der Kollagen induzierte Aggregationsvorgang wird mittels angeschlossenem Kompensationsschreiber kontinuielich aufgezeichnet. Die Kurve stellt die aggregationsbedingte Extinktionsänderung dar.

Auswertung

Nach Zugabe von Kollagen ist nach einer Latenzzeit eine starke Aggregation zu erkennen. Dies wird durch einen steilen Abfall der Kurve erichtlich.
Abb. 5 zeigt das Beispiel einer Kurvenform und deren Auswertung.

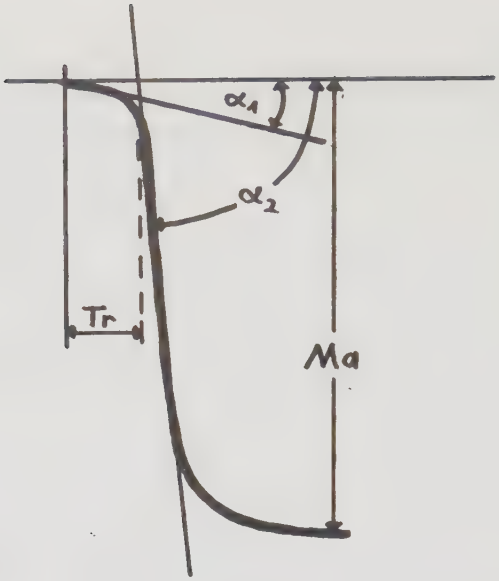


Abb.5 Auswertung der kollageninduzierten Aggregation

Folgende Parameter werden bei der Auswertung der Aggregationskurven bei Kollagen induzierter Aggregaton erfaßt.

α_1: Winkel gebildet aus der Waagrechten und der Tangente zu der nach Kollagenzugabe zunächst flach verlaufenden Transmissionskurve.

α_2: Winkel gebildet aus der Waagrechten und der Tangenten zum steilsten Teil des Kurvenabfalls.

Tr : Reaktionszeit vom Beginn der Messung (Kollagenzugabe) bis zum Beginn der Maximalen Aggregation. Gemessen wird vom Kurvenanfang bis zum Schnitt-

punkt der die Winkel α_1 und α_2 bildenden Tangente.

Ma : Maximalamplitude als Differenz der Ausgangsextinktion und der minimalen Extinktion. Die Maximalamplitude wird als Extinktionsänderung abgelesen, wobei die Null vor dem Komma generell weggelassen wird.

Fehlermöglichkeiten

Unkorrekte Blutentnahme kann zu teilweiser oder völliger Aggregation führen.
Trübung des PRP bei Lipämie, oder die Anwesenheit von Erythrocyten bedingt zu geringe Änderung der optischen Dichte und damit deformierte Aggregationskurven.
Hämolytisches Plasma sowie die Anwesenheit von Heparin steigert die Aggregation.
Scharfe Kanten am Magneten schädigen die Thrombocyten.

2.4. Bestimmung der Thrombozytenzahl

Material

1. Sterile Einmalkanüle
2. 5 ml Kunststoffspritze
3. EDTA-beschichtetes Plastikröhrchen mit einem Fassungsvermögen von 4 ml
4. Denley-Mixer 5 der Fa. Denley, Sussex England
5. Mikropipette (10 µl)
6. Diluent Reservoir (9,1 ml)
7. Ultra-Flo 100 Whole Blood Platelet Counter der Fa. Becton, Dickinson & Co. Parsippany N.Y. USA

Ausführung

Venenblut wird mit einer sterilen Einmalkanüle Nr. 1,1. in eine 5 ml-Kunststoffspritze aufgezogen und anschließend sofort in ein EDTA-beschichtetes Plastikröhrchen gegeben. Um eine völlige Durchmischung des Venenblutes mit dem EDTA zu gewährleisten, wird das Röhrchen für einige Minuten auf einen Denley-Mixer 5 gelegt. Danach wird die Mikro-pipette mit 10 µl EDTA-Blut gefüllt, das Blut an der Außenseite der Pipette vorsichtig entfernt und anschließend in die Verdünnungsflüssigkeit (~~auf~~ Diluent-Reservoir) gegeben. Blut und Verdünnungsflüssigkeit werden abermals gut durchmischt, und das Diluent-Reservoir am automatischen Thrombozytenzähler (Ultra-Flo 100) befestigt. Es ist darauf zu achten, daß das zu untersuchende Material eine Temperatur zwischen 18°C und 30°C besitzt.

Nun werden zunächst die Erythrocyten gezählt, und der ermittelte Wert am Zählgerät eingestellt. Es folgt die Thrombocytenzählung.

Auswertung

Es werden zwei Zählungen durchgeführt. Wenn beide ermittelten Werte $\pm$ 5 % übereinstimmen, wird der Mittelwert aus beiden Zählungen gebildet. Ist die Wertedifferenz größer als 5 %, wird eine weitere Zählung durchgeführt, und der Mittelwert aus den drei Zählungen gebildet.

Fehlermöglichkeiten

Bei zu langsamer Blutentnahme oder ungenügender Durchmischung des Blutes mit dem Antikoagulans kann es zur Teilgerinnung und Hämolyse der Probe kommen. Teilgerinnung mit Plättchenaggregation führt zu falsch niedrigen Auszählungen. Die bei Hämolyse entstehenden roten Zellfragmente können als Plättchen gezählt werden.
Falschzählungen kommen auch bei Leukämiepatienten vor, bei denen Zellfragmente von Thrombocytengröße im Blut existieren.

2.5. Bestimmung der ß-Thromboglobulin (ß-TG)-Konzentration im Venenblut

Material

1. Sterile Einmalkanüle Nr. 1.1.
2. 5 ml Kunststoffspritze
3. Teströhrchen mit einem Fassungsvermögen von 2,5 ml, beinhaltend ein Antikoagulans und ein Reagens zur Vermeidung der weiteren ß-TG-Freisetzung in vitro (Hersteller: Radiochemical Centre Amersham, England)
4. Eiswasserbad
5. MSE-Zentrifuge High Speed 18
6. Reagiergefäße mit einem Fassungsvermögen von 1,5 ml (Hersteller: Fa. Sarstedt)
7. Tiefkühltruhe
8. ß-TG-Standardlösungen mit einer Konzentration von 10 ng/ml, 20ng/ml, 50 ng/ml, 100ng/ml, 225 ng/ml ß-TG
9. Aqua destillata
10. ß-TG-Antiserum
11. ^{125}I-markiertes ß-TG
12. Ammonium-Sulfat-Lösung
13. Vortex-Mixer, Circomix Braun-Melsungen AG
14. Polystyrol-Teströhrchen 75 x 12 mm mit abgerundetem Boden
15. Gamma-Zähler Packard Instrument Company, INC. Illinois USA

Ausführung

Vor der Blutabnahme wird ein Teströhrchen mit einem Fassungsvermögen von 2,5 ml im Eiswasserbad vorgekühlt. In dem Teströhrchen befindet sich ein Gemisch aus Antikoagulans und einem Reagens zur Verhinderung der ß-TG-Freisetzung in vitro.

Nach der Venenpunktion und vorsichtigem Aspirieren des Blutes in eine Kunststoffspritze wird das Venenblut umgehend in die vorgekühlten Teströhrchen gefüllt. Die Zeit für die Blutentnahme soll nicht länger als zwei Minuten betragen.
Durch mehrmaliges Schwenken des Röhrchens wird sichergestellt, daß sich Blut und Reagens gut vermischt haben. Das Teströhrchen wird nun sofort zurück ins Eiswasserbad gestellt, um weitere ß-TG-Freisetzung zu vermeiden. Nach weiteren 15 Minuten Abkühlung, jedoch spätestens drei Stunden nach Blutentnahme, wird die Probe für 30 Minuten mit 1500 bis 2000 g bei 2 - 4°C zentrifugiert.
Nach dem Zentrifugieren werden von jeder Probe zweimal 0,5 ml Überstand abpipettiert und in je ein Reagiergefäß gefüllt. Dieses wird bis zur endgültigen Bestimmung der ß-TG-Konzentration bei -20°C tiefgefroren.
Um die unbekannte ß-TG-Konzentration beurteilen zu können, werden zunächst zu den gefriergetrockneten Standardlösungen jeweils 0,5 ml aqua dest. hinzupipettiert.
Ebenso werden dem ß-TG Antiserum sowie dem ^{125}I-markierten ß-TG jeweils 10 ml destilliertes Wasser zugesetzt. Die Ammonium-Sulfat-Lösung wird auf Zimmertemperatur gebracht.
Die Proberöhrchen werden nun, wie aus Tabelle 1 ersichtlich, arrangiert. Es werden jeweils zwei Röhrchen für eine Probe verwendet.

Tabelle 1: ß-TG, Versuchsprotokoll

	ß-TG-Standardlösungen (ng/ml)					Unbekannte ß-TG		
	10	20	50	100	225	1	2	3 etc
Röhrchennummer	1,2	3,4	5,6	7,8	9,10	11,12	13,14	15,16
Standardlösungen	50	50	50	50	50	-	-	-
Unbekannte ß-TGs	-	-	-	-	-	50	50	50
^{125}I-markiertes ß-TG	200	200	200	200	200	200	200	200
ß-TG-Antiserum	200	200	200	200	200	200	200	200
	Proben mischen und 1 Std. bei Raumtemperatur inkubieren							
Ammonium-Sulfat-Lsg.	500	500	500	500	500	500	500	500
	Proben mischen und mit 1000-1500 g für 10-15 Mi zentrifugieren. Überstand entfernen. Messen der Radioaktivität im Präcipitat.							

Alle Mengenangaben in Mikroliter

In jedes Röhrchen werden 50 µl der entsprechenden ß-TG-Standardlösung oder 50 µl des plättchenarmen Plasmas unbekannter ß-TG Kozentration gegeben. (s. Schema in Tab. 1) 200 µl ^{125}I markiertes ß-TG wird allen Proben zugesetzt. Ebenso wird 200 µl ß-TG Antiserum in jede Probe pipettiert. Nun wird der Inhalt aller Röhrchen im Mixer gut durchmischt und eine Stunde bei Raumtemperatur inkubiert. Hierauf werden jedem Röhrchen 0.5 ml Amoniumsulfatlösung hinzugefügt. Der Inhalt wird erneut im Mixer durchmischt und anschließend für 10-15 Minuten mit 1000-1500 g zentrifugiert.
Nach dem Zentrifugieren wird der Überstand vom Präcipitat getrennt, indem man die Teströhrchen vorsichtig um 180°

kippt und den flüssigen Überstand auf saugfähiges Papier gießt. Dieser Vorgang ist nach fünf Minuten abgeschlossen und die Röhrchen mit dem verbliebenen Präcipitat werden zur Auswertung in den Gamma-Zähler eingebracht.

Auswertung

Die im Gamma-Zähler gemessene Radioaktivität der Präcipitate wird in entsprechende Tabellen eingetragen.
Zunächst wird die Radioaktivität der bekannten ß-TG Standardkonzentrationen ermittelt und aus diesen Werten eine Kurve angelegt. Auf dieser Kurve lassen sich nun die Konzentrationen der unbekannten ß-TG Proben ablesen.

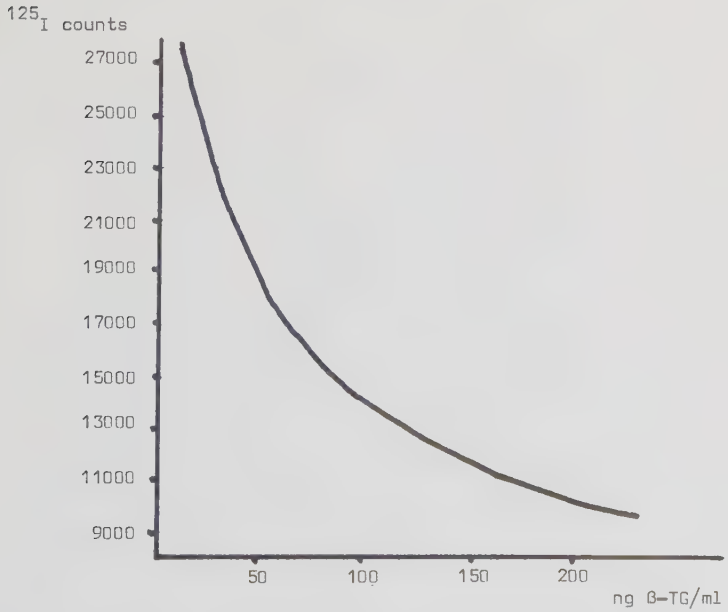


Abb. 6 Typische ß-TG Standardkurve

Fehlermöglichkeiten

Teilgerinnung und damit vermehrter ß-Thromboglobulin-austritt aus den Thrombocyten kann auftreten, bei zu langsamer Blutentnahme (> 2 min) und bei ungenügender Durchmischung mit dem Antikoagulanz und dem Reagenz zum Stoppen der ß-TG Freisetzung im Teströhrchen.
Bei Nichtbeachtung der Kühlung vor und während des Zentrifugierens können erhöhte ß-TG werte resultieren.
Weiterhin haben Aspirin, Opium-Alkaloide und Heparin Einfluß auf die ß-TG Konzentration.
Auch bei Infektionen werden Erhöhungen des ß-TG Spiegels beobachtet.

2. 6. Probandenkollektiv

In der vorliegenden Arbeit werden die Untersuchungsergebnisse von 16 klinisch gesunden Personen mitgeteilt. Es handelte sich zum überwiegenden Teil um Studenten, und zwar um 8 Frauen und um 8 Männer. Das mittlere Lebensalter betrug 22.6 Jahre. Der jüngste Proband war 17, der älteste 29 Jahre alt.
Probanden die in den letzten sieben Tagen Aspirin oder acetylsalicylsäurehaltige Medikamente eingenommen hatten, wurden nicht in die Untersuchung einbezogen.

2. 7. Zeitliches Vorgehen bei der Untersuchung

Untersucht wurden pro Tag ein bis zwei Probanden. Zunächst wurde bei den Probanden die Einnahme von aggregationsbeeinflussenden Präparaten durch Erhebung einer Kurzanamnese ausgeschlossen.
Danach wurden pro Person sieben Blutentnahmen im Abstand von drei stunden, verteilt über den ganzen Tag, vorgenommen. Die erste Untersuchung fand um 8 Uhr statt, weitere Blutabnahmen um 11, 14, 17, 20, 23 und um 2 Uhr folgten.
In der dazwischen liegenden Zeit wurden die Tests am Photometer vorgenommen,und die Thrombocyten ausgezählt.
Das Plasma für die ß-Thromboglobulinbestimmung wurde zunächst tiefgefroren. Das PRP zur Bestimmung des Formwandels unter dem Mikroskop im Kühlschrank gelagert.

3. ERGEBNISSE

3. 1. Zeitabhängiger Formwandel der Thrombocyten im Citratplasma bei 37°C

Bei der Untersuchung des Formwandels sofort nach der Blutentnahme "0 Min.-Wert" zeigt sich folgendes Tagesprofil der formveränderten Thrombocyten.

Tab. 2
Mittelwerte (M) und Standardabweichung (s) des Formwandels der Thrombocyten sofort nach Blutentnahme "0 Min.-Wert"

Uhr	8	11	14	17	20	23	2
M	25.06	23.75	25.69	22.38	22.63	22.44	23.50
s	6.64	2.91	7.98	2.87	3.50	2.39	3.08

n=16

Auffällig sind die etwas erhöhten Mittelwerte bei 8 und insbesondere bei 14 Uhr.
Bei der Einzelfallbetrachtung zeigt sich jedoch, daß sich zu diesen beiden Tageszeiten bei einem Probanden ein stark erhöhter Formwandel finden ließ. (8 Uhr - 48% und 14 Uhr - 54% formveränderte Thrombocyten)

Anteil der formveränderten Thrombocyten bei 16 gesunden Probanden im Alter zwischen 17 und 29 Jahren in Abhängigkeit von der Tageszeit, gemessen sofort nach Blutentnahme

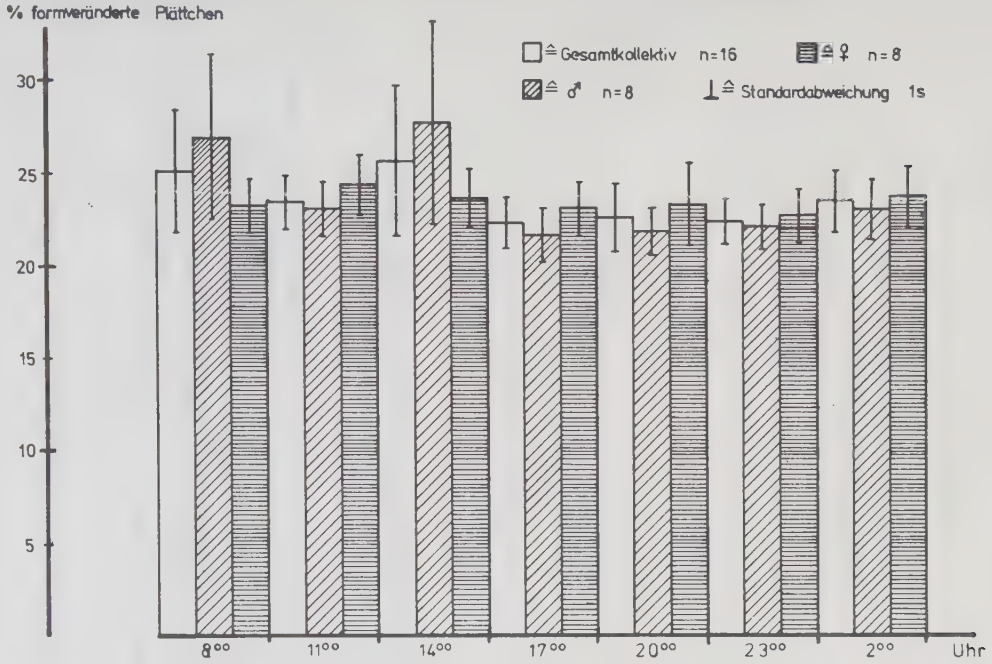


Abb. 1

Da dieser Proband ansonsten einen Formwandel von 20% ± 2% aufwies, muß davon ausgegangen werden, daß diese beiden hohen Werte auf Gewebssaftbeimischung bei der Blutabnahme zurückzuführen sind.
Bei Vernachlässigung dieser beiden Werte zeigt sich ein etwa konstanter Verlauf des Formwandels sofort nach der Blutentnahme "0 Min.-Wert".
Auch bei Auftrennung des Kollektivs nach Geschlechtern läßt sich, wie aus Abb. 7 ersichtlich, keine nennenswerte Schwankung der Formwandelwerte im Tagesverlauf registrieren.

s. Abb. 7

Ebenso zeigen die 5 Minuten und die 15 Minuten nach Blutabnahme ermittelten Anteile an formveränderten Plättchen einen ausgesprochen konstanten Verlauf.

Tab.
Mittelwerte (M) und Standardabweichung (s) des Formwandels der Thrombocyten 5 Minuten nach Blutentnahme

Uhr	8	11	14	17	20	23	2
M	26.75	26.75	25.25	26.19	26.06	25.50	25.50
s	5.63	3.44	2.24	4.96	3.13	4.21	4.16

n=16

Anteil der formveränderten Thrombocyten bei 8 gesunden weiblichen Probanden im Alter zwischen 17 und 25 Jahren in Abhängigkeit von der Tageszeit, gemessen 0min, 5min und 15min nach Blutentnahme

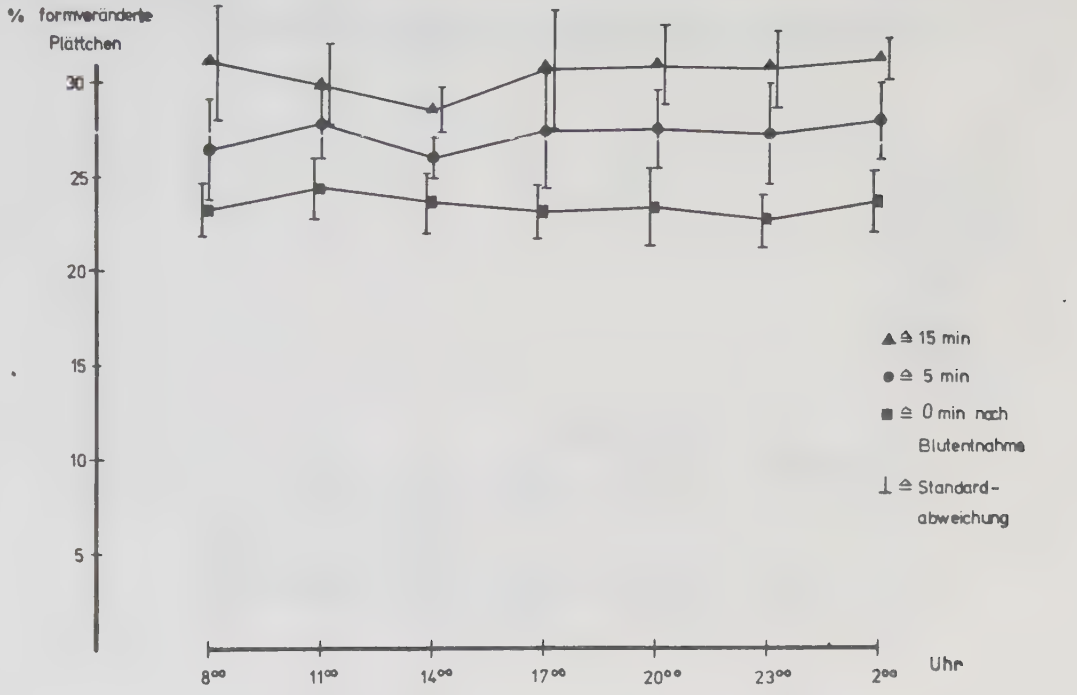


Abb. 2

Anteil der formveränderten Thrombocyten bei 8 gesunden männlichen Probanden im Alter zwischen 17 und 29 Jahren in Abhängigkeit von der Tageszeit, gemessen 0min, 5min und 15min nach Blutentnahme

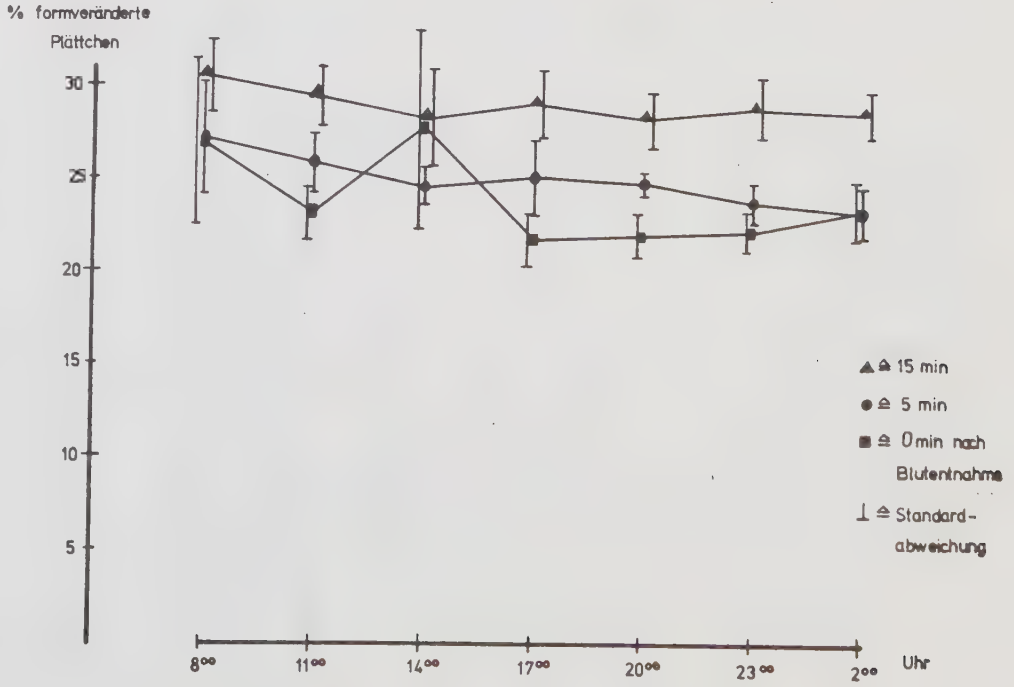


Abb. 9

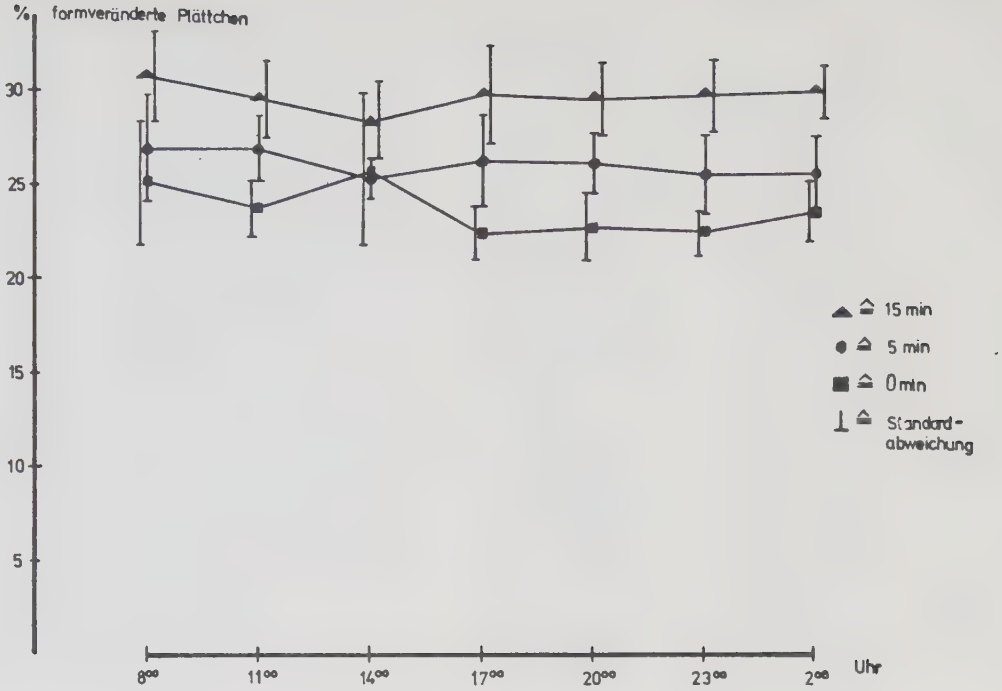

%
formveränderte Plättchen
30
25
20
15
10
5
15 min
5 min
0 min
Standard-
abweichung
8⁰⁰
11⁰⁰
14⁰⁰
17⁰⁰
20⁰⁰
23⁰⁰
2⁰⁰
Uhr

Abb. 10

Tab. 4
Mittelwerte (M) und Standardabweichung (s) des Formwandels der Thrombocyten 15 Minuten nach Blutentnahme

Uhr	8	11	14	17	20	23	2
M	30.75	29.56	28.31	29.81	29.50	29.75	29.81
s	5.14	3.88	4.08	5.06	3.71	3.77	2.69

n=16

Die Abb. 8-10 zeigen die Mittelwerte und Standardabweichungen der Messungen sofort, 5 Minuten und 15 Minuten nach Blutentnahme in einer Kurve.

s. Abb. 8

s. Abb. 9

s. Abb. 10

Auch hier wird, bis auf die schon oben erwähnte Abweichung im 14 Uhr-Wert bei einem männlichen Probanden, ein weitgehend konstanter Verlauf der Werte bei allen drei Zeitpunkten nach Blutentnahme ersichtlich.
Am besten stellt sich der konstante Verlauf bei den acht weiblichen Probanden dar, weil hier keine Ausreißerwerte vorkamen.

3.2. Photometrischer Plättchenaggregationstest nach Breddin (PAT III)

Bei der Auswertung der α_1 Werte beim PAT III ergab sich folgendes Tagesprofil

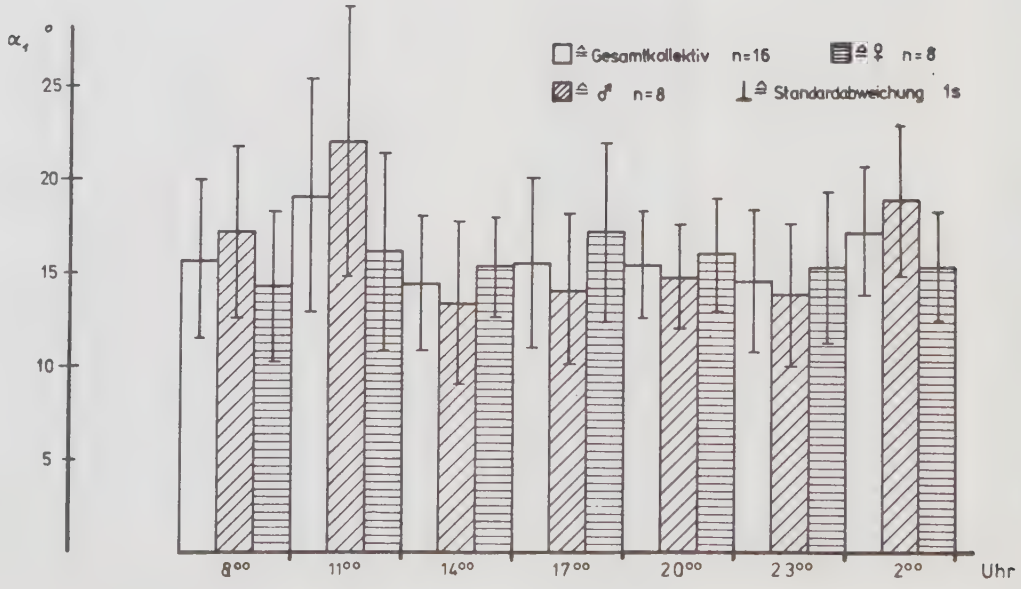
Tab. 5
Mittelwert (M) und Standardabweichung (s) des Winkels α_1 beim PAT III

Uhr	8	11	14	17	20	23	2
M	15.69	19.09	14.34	15.66	15.53	14.53	17.34
s	8.48	12.50	7.25	8.72	5.67	7.66	7.03

n=16

Bei der Darstellung des Winkels α_1 im Tagesverlauf (s. Abb. 11) wird deutlich, daß hier im Gesamtkollektiv keine wesentlichen Schwankungen auftreten. Lediglich bei der Auftrennung nach Geschlechtern zeigt sich bei den Männern eine Erhöhung des α_1 Wertes bei 11 Uhr.

PAT III von 16 gesunden Probanden im Alter zwischen 17 und 29 Jahren in Abhängigkeit von der Tageszeit



Bei der Betrachtung der Maximalamplitude (Ma) des PAT III fielen bei vier Probanden stark erhöhte Werte auf. Bei diesen vier Probanden traten zu den verschiedensten Tageszeiten Spontanaggregatinen und damit Erhöhungen der Ma auf (s. Abb.12 +13).

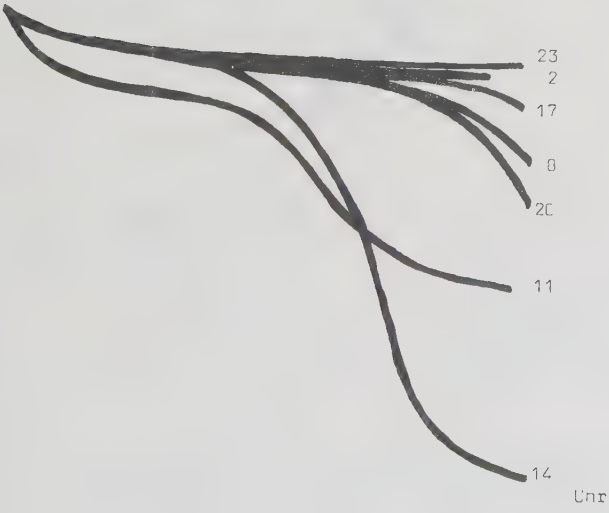


Abb. 12 Kurvenverlauf bei dem Probanden J. (J. trat am darauf folgenden Tag eine Weltreise an.)

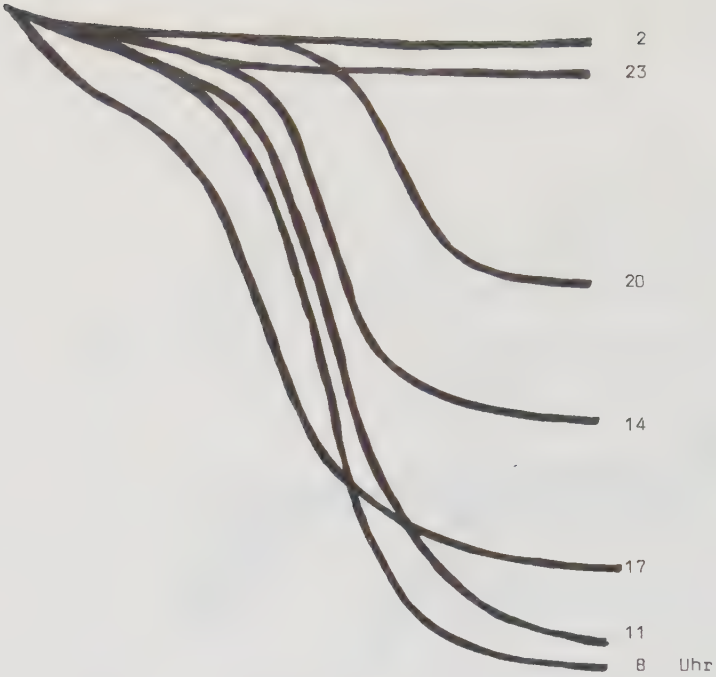


Abb.13 Kurvenverlauf bei dem Probanden M. (Deutliche Spontanaggregation in den Morgenstunden, abendlicher Rückgang der Aggregationsneigung, Aufhebung der Spontanaggregation nachts um 2 Uhr.)

Die Probanden J. und M., sowie zwei weitere Probanden mit Spontanaggregationen wurden bei der Bildung des Mittelwertes von Ma nicht berücksichtigt. Bei den verbliebenen 12 Personen trat keine Spontanaggregation auf.

Das Tagesprofil der Ma-Werte ist in Tab. 6 dargestellt.

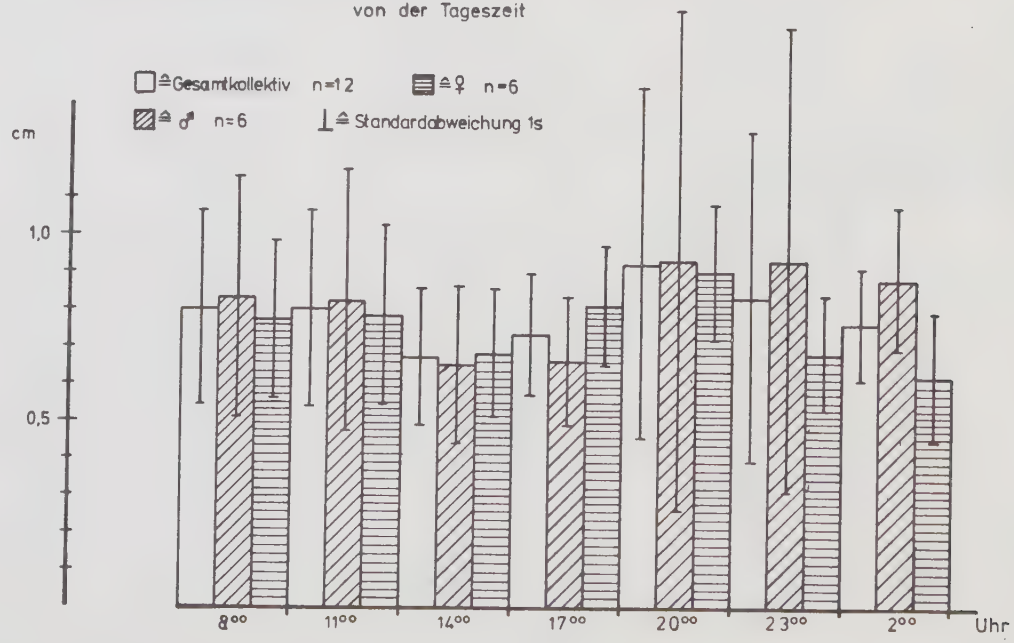
Tab. 6
Mittelwert (M) und Standardabweichung (s) der Maximal-amplitude (Ma) beim PAT III

Uhr	8	11	14	17	20	23	2
M	0.80	0.80	0.67	0.73	0.92	0.81	0.75
s	0.53	0.58	0.38	0.33	0.95	0.88	0.30

n=12

Ersichtlich wird eine leichte Verminderung der Ma um die Mittagszeit (bei 14 und 17 Uhr) und ein Wieder-anstieg am Abend (20 und 23 Uhr). Um 2 Uhr ist dann wieder ein Rückgang der Ma unter morgendliche Ausgangs-werte zu verzeichnen. (s. Abb. 14)

PAT III von 12 gesunden Probanden im Alter zwischen 17 und 29 Jahren in Abhängigkeit von der Tageszeit



3.3. Untersuchung der kollageninduzierten Aggregation im Citratblut

Bei der Auswertung der α_1 Werte der kollageninduzierten Aggregation ergab sich folgendes Tagesprofil.

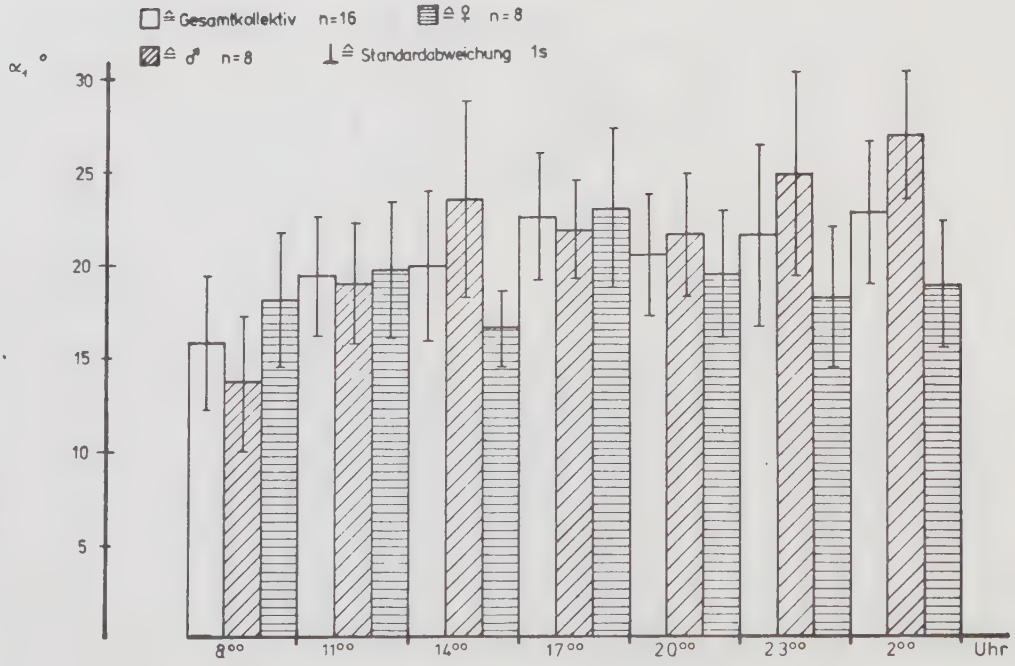
Tab. 7
Mittelwert (M) und Standardabweichung (s) des Winkels α_1 bei der kollageninduzierten Aggregation

Uhr	8	11	14	17	20	23	2
M	15.88	19.25	20.03	22.47	20.66	21.41	22.91
s	7.18	6.58	8.31	6.98	6.44	9.66	7.78

n=16

Bei der Betrachtung des Tagesverlaufes (s. auch Abb. 15) fällt ein niedriger Mittelwert von 15.88 für um 8 Uhr auf. Bei der Einzelwertbetrachtung zeigt sich hier, daß der Winkel α_1 um 8 Uhr lediglich bei 3 von 16 Probanden niedrig liegt. Die anderen 13 Probanden haben um 8 Uhr gleich hohe α_1 Werte wie zu anderen Tageszeiten.

Winkel α_1 der kollageninduzierten Aggregation von 16 gesunden Probanden im Alter zwischen 17 und 29 Jahren in Abhängigkeit von der Tageszeit



Die Time reaction (Tr) der kollageninduzierten Aggregation weist folgenden Verlauf auf.

Tab. 8
Mittelwert (M) und Standardabweichung (s) der Time reaction

Uhr	8	11	14	17	20	23	2
M	1.55	1.53	1.54	1.78	1.69	1.65	1.60
s	0.59	0.45	0.59	0.48	0.46	0.59	0.50

n=10

Auch bei der Auftennung des Kollektivs nach Geschlechtern zeigt sich ein weitgehend konstanter Verlauf der Time reaction (s. Abb. 16)

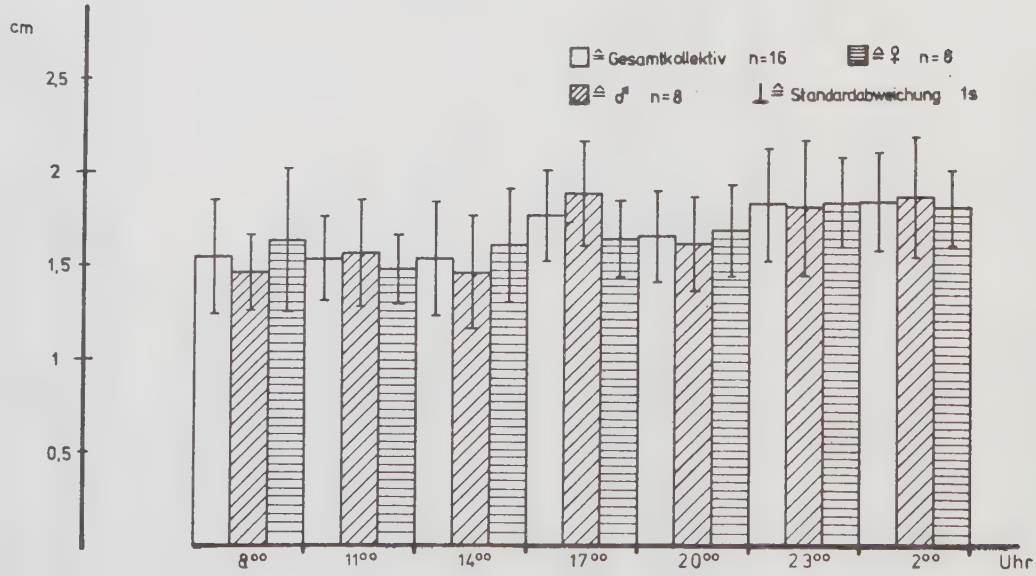
Die Betrachtung der Maximalamplitude der kollageninduzierten Aggregation ergab nachstehendes Tagesprofil.

Tab. 9
Mittelwert (M) und Standardabweichung (s) der Maximalamplitude (Ma)

Uhr	8	11	14	17	20	23	2
M	14.07	14.56	13.91	14.34	12.99	13.76	13.31
s	2.29	2.06	2.51	2.66	3.36	3.02	3.37

n=16

Time reaction der kollageninduzierten Aggregation von 16 gesunden Probanden im Alter zwischen 17 und 29 Jahren in Abhängigkeit von der Tageszeit



Auch bei der Auftrennung nach Geschlechtern zeigt sich keine Rhythmik der Maximalamplitude im Tagesverlauf. (s. Abb. 17)

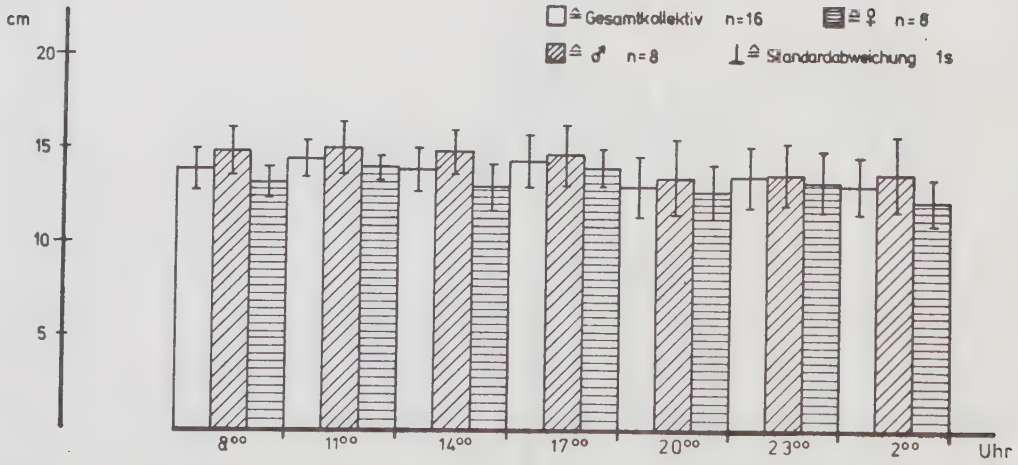
Der Winkel α_2 war bei allen Personen im Tagesprofil annähernd konstant, sodaß auf seine graphische Darstellung verzichtet wurde.

Tab. 10
Mittelwert (M) und Standardabweichung (s) des Winkels α_2 bei der kollageninduzierten Aggregation

Uhr	8	11	14	17	20	23	2
M	87.25	87.59	87.22	87.38	86.84	87.22	86.97
s	1.60	0.74	0.89	0.85	1.85	1.62	1.88

n=16

Maximalamplitude der kollageninduzierten Aggregation von 16 gesunden Probanden im Alter zwischen 17 und 29 Jahren in Abhängigkeit von der Tageszeit



3.4. Bestimmung der Thrombocytenzahl

Bei der Ermittlung der Thrombocytenzahl wurde bei allen 16 Probanden ersichtlich, daß hier keine Tageszeitlichen Schwankungen vorlagen. Im Einzelnen ergab sich folgendes Tagesprofil.

Tab. 11
Mittelwert (M) und Standardabweichung (s) der Thrombocytenzahl gemessen am Ultra-Flo 100 Blood Platelet Counter

Uhr	8	11	14	17	20	23	2
M	252.0	251.2	253.1	251.8	255.6	254.1	255.8
s	44.11	49.03	52.53	51.67	52.30	48.70	56.59

n=16

Auch die Auftrennung nach Geschlechtern zeigt keine Rhythmik im Tagesprofil. Aus der Abb. 18 geht jedoch hervor, daß die Mittelwerte der männlichen Probanden zu allen Tageszeiten höher liegen als die entsprechenden Mittelwerte der weiblichen Probanden.
Die höheren Werte bei den Männern haben bei sich überdeckenden Standardabweichungen keine statistische Signifikanz.

Thrombocytenspiegel bei 16 gesunden Probanden im Alter zwischen 17 und 29 Jahren in Abhängigkeit von der Tageszeit

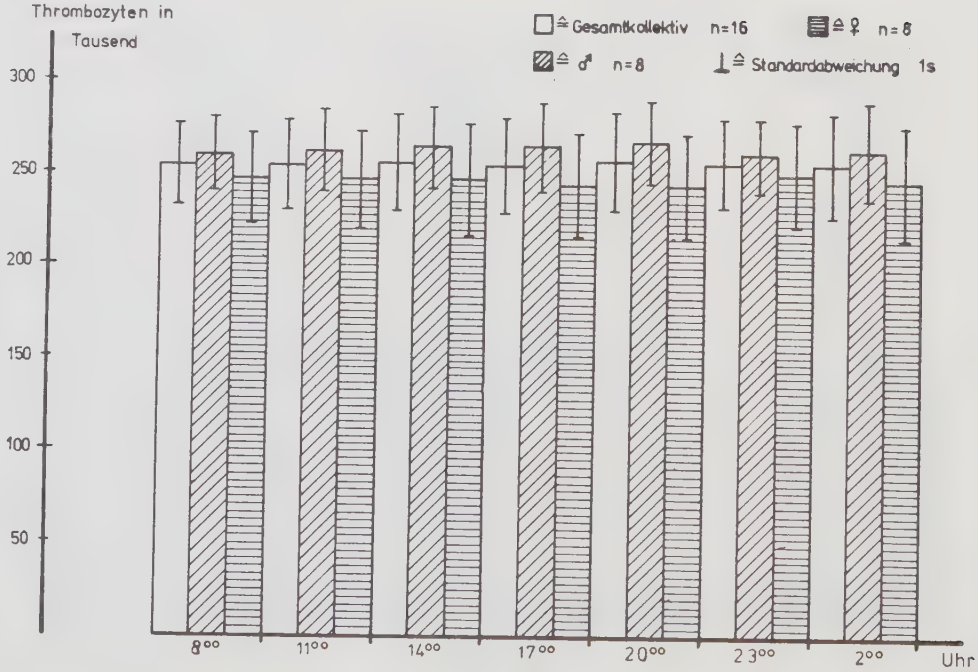
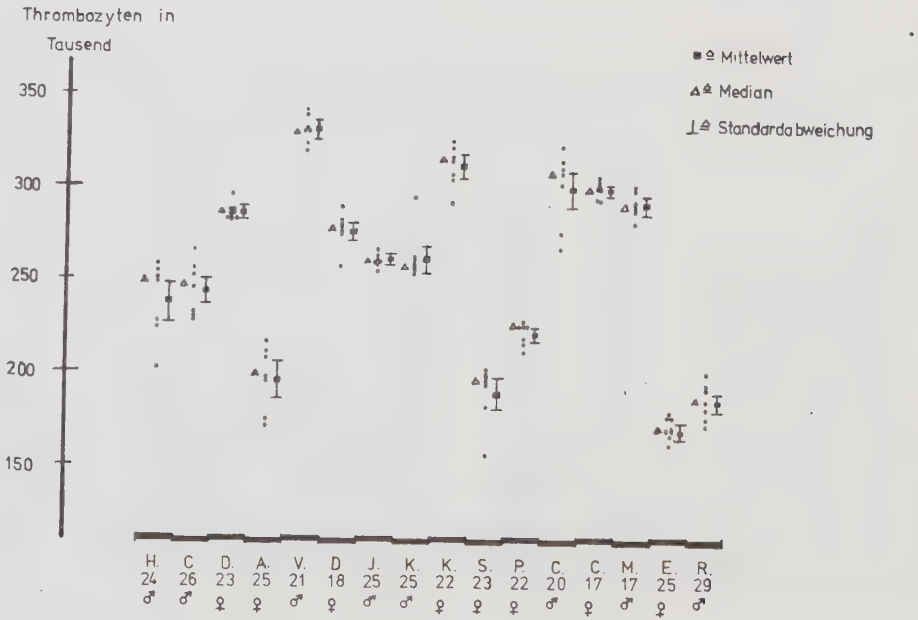


Abb. 18

Die Normwerte der Thrombocyten bewegen sich zwischen 180 Tausend und 350 Tausend Thrombocyten/mm^3. Es besteht also eine wesentlich größere Variationsbreite bei den Normalwerten der Thrombocyten als etwa bei den Erythrocyten oder dem Hämoglobulin.
In der Abb. 19 wird diese Breite der Normalwerte nocheinmal verdeutlicht. Es zeigt sich, daß zB. der Proband E Thrombocytenwerte von ca. 170 Tausend, ein anderer, Proband V Trombocytenwerte von ca. 330 Tausend/mm^3 aufweist.
Neben diesen individuellen Schwankungen existieren auch Verschiebungen der Thrombocytenwerte bei Krankheiten. So zeigt sich bei Blutungen ein Abfall der Thrombocytenzahl, während bei einer Sepsis hohe Thrombocytenzahlen gefunden werden.

Thrombocytenspiegel bei 16 gesunden Probanden im Alter zwischen 17 und 29 Jahren während einer Beobachtungsperiode von 24 Stunden



3.5. Bestimmung der ß-Thromboglobulin (ß-TG) Konzentration im Venenblut

Bei der Bestimmung der ß-Thromboglobulinkonzentration ergab sich folgendes Tagesprofil.

Tab. 12
Mittelwert (M) und Standardabweichung (s) der ß-Thromboglobulinkonzentration im Venenblut

Uhr	8	11	14	17	20	23	2
M	78.81	53.19	64.38	56.00	52.25	53.75	70.00
s	52.97	28.29	31.61	54.70	53.67	52.50	49.66

n=16

Der Tagesverlauf zeigte höhere Werte bei 8 Uhr (78.81 ng/ml) und um 2 Uhr (70.00 ng/ml). (s. Abb. 20)
In der Abb. 21 sind die ß-Thromboglobulinspiegel nach Probanden aufgeschlüsselt dargestllt. Hier ist zu erkennen, daß die einzelnen Personen sehr unterschiedliche Konzentrationen aufweisen.
Die Tagesverläufe von vier Probanden sind in einer gesonderten Kurve dargestellt. (s. Abb. 22)

ß-Thromboglobulinspiegel von 16 gesunden Probanden im Alter zwischen 17 und 29 Jahren in Abhängigkeit von der Tageszeit

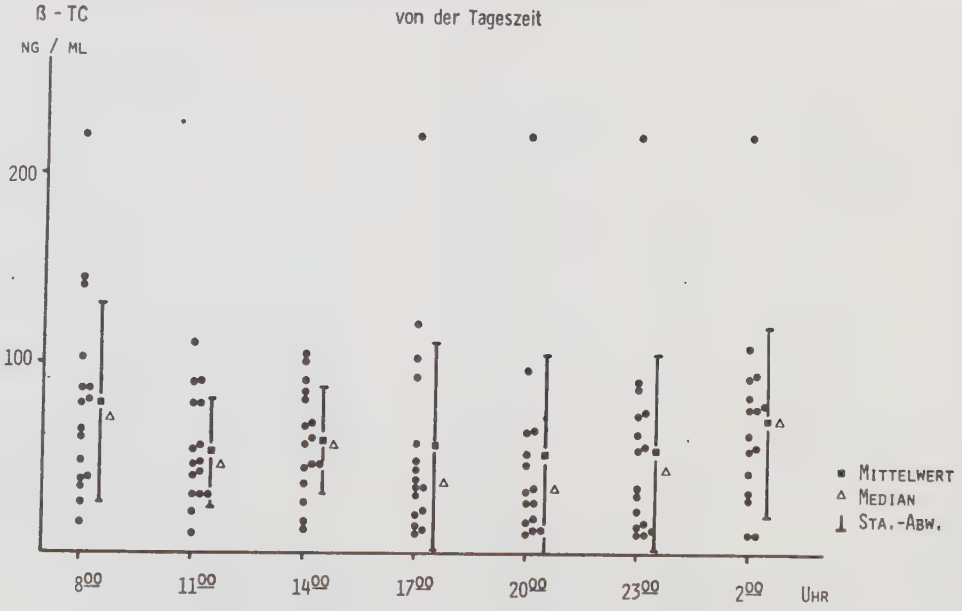


Abb. 20

ß-Thromboglobulinspiegel bei 16 gesunden Probanden im Alter zwischen 17 und 29 Jahren während einer Beobachtungsperiode von 24 Stunden

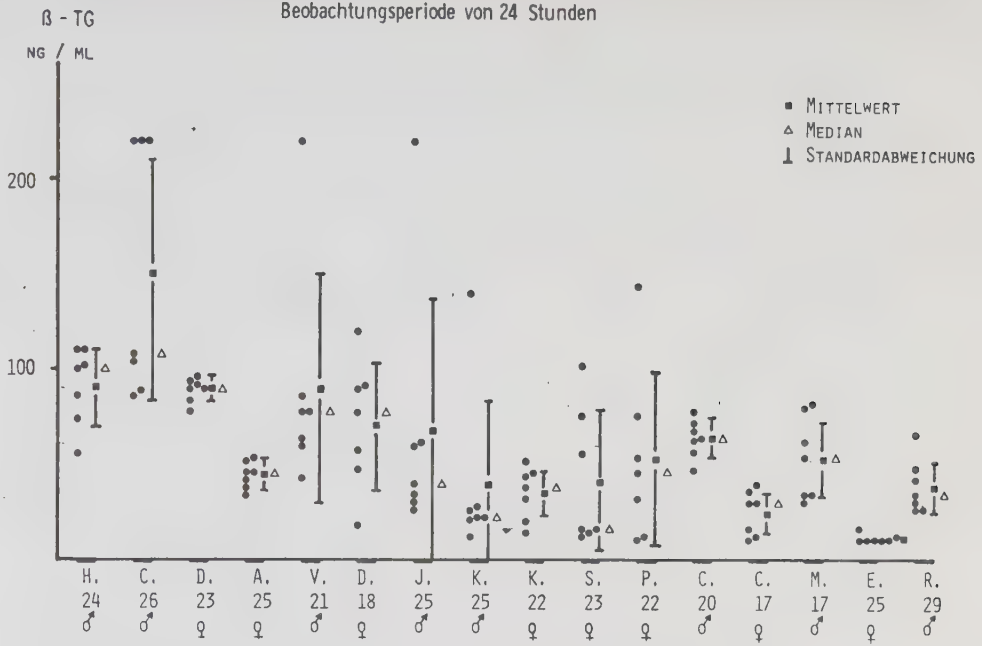


Abb. 21

Unterschiedlicher Tagesverlauf des ß-Thromboglobulinspiegels bei 4 gesunden Probanden

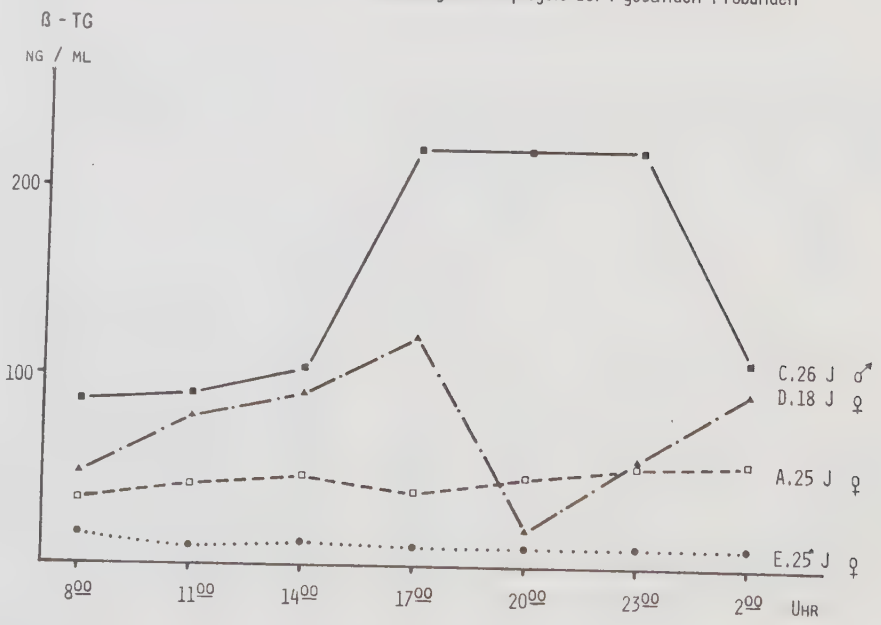


Abb. 22

D I S K U S S I O N

Ziel der vorliegenden Arbeit war es zu untersuchen, ob es eine circadiane Rhythmik der Thrombocytenfunktion gibt. Tagesperiodische Schwankungen sind für zahlreiche Körperfunktionen seit langem bekannt.(MERTZ 1964, WISSER 1973, BUNNING 1977) So unterliegt die Regulation der Körpertemperatur charakteristischen periodischen Prozessen. (KRIEBEL 1974) Auch die Produktion vieler Hormone läßt einen ausgeprägten Tagesgang erkennen.(LOMMER et al. 1976) So zeigt die Cortisolausschüttung einen maximalen Sekretionsschub in den frühen Morgenstunden.(ASCHOFF 1978) Das Wissen um diese circadianen Phasen fand seinen Niederschlag in der zeitgerechten Applikation von Medikamenten.(KUSCHINSKY 1978) Bei einer Corticosteroiddauertherapie versucht man den endogenen Rhythmus beizubehalten, und verabreicht das Steroid daher in den Morgenstunden.

Durch die hier vorgestellten Untersuchungen sollte festgestellt werden, ob die Thrombocytenfunktion tageszeitlichen Schwankungen unterliegt. Würde eine circadiane Rythmik der Thrombocytenfunktion bestehen, wären nicht nur Änderungen der Laborwerte im Tagesverlauf registrierbar, sondern es wären auch Konsequenzen in der Therapie mit thrombocytenbeeinflussenden Medikamenten denkbar. Ähnlich wie bei der Cortisontherapie wäre auch hier eine zeitgerechte Medikamentenapplikation mit verbessertem Therapieerfolg zu erwarten.

Morphologische Veränderungen der Thrombocyten nach Blutentnahme sind schon seit den Untersuchungen von ZUCKER und BORRELLI (1954) bekannt. Diese morphologischen Veränderungen, die Ausbildung sog. "Reizformen" bei Stimulation der Thrombocyten scheinen Voraussetzung für die Thrombocytenaggregation und die Bildung des Plättchenpfropfes bei Hämostase und Thrombosenentstehung zu sein. (BREDDIN et al. 1974)

Von den unmittelbar nach Blutentnahme fixierten Thrombocyten weisen ca. 75% ihre native Scheibenform auf. (NÜSSE 1977) Werden die Thrombocyten erst 15 Minuten nach Blutentnahme fixiert, steigt der Anteil der Formveränderten auf etwa 30% an (KROEMER 1978) Diese Werte gelten bei Inkubationstemperaturen von 37°C, während bei niedrigen Temperaturen, etwa bei 4°C fast alle Plättchen formverändert sind. (BAUER 1978)

Unsere Fragestellung lautet: Gibt es eine Tagesperiodik des Formwandels, inkubiert bei 37°C untersucht an 16 gesunden Probanden. Bei den 5 und 15 Minuten nach Blutentnahme mit Glutaraldehyd fixierten Plättchen ergab sich ein über den ganzen Tagesverlauf konstanter Anteil der formveränderten Thrombocyten (s. Tab. 3 und 4) Lediglich bei dem sofort nach Blutentnahme ermittelten Formwandel fand sich eine Erhöhung des formgewandelten Anteils bei 8 und bei 14 Uhr. (s. Tab. 2 und Abb. 7) Bei der Einzelfall betrachtung (s. Wertetab. S. 68) stellte sich jedoch heraus, daß diese beiden Spitzen um 8 und um 14 Uhr durch abnorm hohe Werte bei nur einem Probanden hervorgerufen wurden. Unter Ausklammerung dieser beiden, wahrscheinlich durch fehlerhafte Blutentnahme enstandenen, abnorm hohen Werten, kann eine Tagesperiodik des Formwandels der Thrombocyten nicht festgestellt werden.

Ein extrem hoher Anteil von formveränderten Plättchen findet sich bei der Verwendung von kleinlumigen Kanülen, forcierter Aspiration, Schaumbildung und Gewebssaftbeimischung (BAMBERG et al. 1978).

Der 1974 von Breddin entwickelte Plättchenaggregationstest III ermöglicht eine fortlaufende Registrierung der spontanen Thrombocytenaggregation. Die in einer scheibenförmigen Küvette erfolgende Aggregation wird kontinuierlich photometrisch aufgezeichnet. (s. Abb.3) Bei diesem Test wird dem Plasma kein aggregationsfördernder Faktor zugesetzt. Voraussetzung für die spontan ablaufende Aggregation ist die Möglichkeit der Kohlensäurefreisetzung aus dem in der rotierenden Scheibenküvette befindlichen Plasma. Aus der CO_2-Abgabe resultiert ein pH- Anstieg, ohne den eine spontane Aggregation ausbleiben würde. (BREDDIN 1975)
Zwischen Blutentnahme und photometrischer Aufzeichnung der Aggregation sollten mindestens eine, höchstens vier Stunden vergehen. (BREDDIN 1975) Führt man den Test früher durch, etwa 15 Minuten nach Blutabnahme, so zeigt sich keine oder geringe Aggregation. AB vier Stunden nach Blutentnahme ist wieder eine Verminderung der Aggregationsneigung zu verzeichnen. (BREDDIN 1975)
In unsrer Untersuchung wurde der Plättchenaggregationstest bei allen Probanden 90 Minuten nach Blutabnahme durchgeführt.
Wie beim Formwandel der Thrombocyten besteht auch beim Plättchenaggregationstest eine Abhängigkeit von der Inkubationstemperatur. So ist nach REUTER (1973) die Aggregationsneigung eines bei $4^{o}C$ inkubierten Plasmas deutlich höher als die eines bei Zimmertemperatur inkubierten Plasmas.
BREDDIN (1968) führt die gesteigerte Thrombocytenadhäsivität bei niedriger Temperatur auf die schon erwähnten morphologischen Plättchenveränderungen zurück. Dieser reversible Formwandel ist

bei Erwärmung des PRP auf 37°C rückbildungsfähig. So beschreibt auch WINTERHAGER (1977) eine signifikante Verminderung der Aggregationsneigung nach Inkubation des PRP bei 37°C.

Bei unserer Untersuchung der spontanen Aggregation mit dem Plättchenaggregationstest PAT III nach BREDDIN zeigte sich, daß bei vier Probanden Spontanaggregationen vorkamen, während die restlichen 12 Personen keine Aggregation aufwiesen. (s. hierzu Abb. 12 und 13) Die Abb. 13 zeigt die photometrisch aufgezeichnete Spontanaggregation bei Proband M. ´. Dieser Proband war zum Zeitpunkt der Untersuchung 17 Jahre alt und nach eigenen Angaben völlig gesund. Auffällig war, daß selbst in einem so jungen Kollektiv (17-29 J.) ein Viertel aller Probanden eine abnorme Aggregationsbereitschaft der Thrombocyten aufwies, ohne klinische Symptome zu manifestieren, die erfahrungsgemäß mit einer erhöhten Aggregationsneigung einhergehen.
Bei der Betrachtung des Winkels α_1 beim PAT III (s. Abb. 11) ist ein Ansteigen der Werte um 11 Uhr und dann wieder um 2 Uhr zu verzeichnen. Untersucht man jedoch jeden einzelnen Probanden auf diesen Anstieg hin, so zeigt sich, daß gerade der 11 und der 2 Uhr Wert bei einzelnen Personen ein gegenteiliges Verhalten zeigt, nämlich zu diesen Zeiten dei niedrigsten α_1-Werte aufweist. (s. Tab. 5 Pers. 9 und 13) (Ermittelt man von jedem Probanden die beiden höchsten α 1-Werte, so resultiert eine etwa gleich häufige Verteilung der Maxima über den ganzen Tagesverlauf.)
Bei der Bewertung der Ma wurden die vier Probanden mit deutlicher Neigung zur Spontanaggregation aus dem Untersuchungskollektiv herausgenommen. Der Verlauf der verbliebenen 12 Personen ist in Abb, 14 dargestellt. Das Säulendiagramm zeigt eine angedeutete S-Form mit einem Tief am Nachmittag (14 und 17 Uhr), einen Wiederanstieg am Abend und ein erneutes Absinken der Werte

um 2 Uhr unter die morgendlichen Werte. Eine breite Streuung der Werte ausgedrückt durch die hohe Standardabweichung besonders der abendlichenWerte (20 u. 23 Uhr) ergab sich, weil bei einem Probanden zu diesen Tageszeiten eine stark erhöhte Maximalamplitude auftrat (s. Tab. S.65 Pers. 16).
Unter Berücksichtigung all dieser Faktoren kann auch beim PAT III eine Tagesperiodik nicht sicher festgestellt werden.
Mögliche Fehlerquellen sind Beimengungen von Gewebssaft oder Thrombinbildung bei der Blutentnahme, was bei den hier vorgenommenen Untersuchungen jedoch weitgehend ausgeschlossen werden kann. Dies kann zur teilweisen oder totalen Aggregation des PRP vor der Untersuchung führen. Bei Lipämie oder der Anwesenheit von Erythrocyten entstehen deformierte Aggregationskurven (BREDDIN 1975).

Bei der kollageninduzierten Aggregation wird die Aggregation durch Kollagenzugabe zum PRP ausgelöst und fortlaufend als Kurve mittels einem am Photometer angeschlossenen Schreiber aufgezeichnet. In vivo liegt Kollagen nach Gefäßverletzungen frei und könnte hier die schnelle Adhäsion von Thrombocyten bewirken. (WIEDEMANN BREDDIN 1979)
Unsere Untersuchung fand 30 Minuten nach Blutentnahme statt.
Das PRP wurde bei Zimmertemperatur inkubiert.
Auch bei der kollageninduzierten Aggregation konnte eine circadiane Rhythmik nicht nachgewiesen werden. Der Winkel α_2 als Ausdruck der maximalen Agg.geschwindigkeit liegt bei allen Probanden fast völlig konstant bei ca. 87° (s. Tab. 10 und Tab. S.61). Ebenso zeigen die Reaktionszeit (Tab. 8 und Abb. 16)sowie die Ma (Tab. 9 und Abb.17) keine nennenswerten Schwankungen im Tagesverlauf. Lediglich der Winkel α_1 weist bei 8 Uhr eine Erniedrigung des Mittelwertes auf.(Tab. 7 und Abb.15) Bei der Einzelfallbetrachtung fällt auf, daß bei drei Probanden stark erniedrigte Werte bei der Untersuchung um 8 Uhr bestehen, während die restlichen 13 Probanden zu allen Tageszeiten etwa gleich hohe α_1 Werte aufweisen.

Die Auszählung der Thrombocyten erfolgte bis zur Einführung der elektronischen Zählgeräte unter dem Phasenkontrastmikroskop.

BULL (1965) stellte die automatische Thrombocytenzählung im PRP vor. Der ermittelte Wert mußte hier über den Hämatokrit der Blutprobe korrigiert werden.
Unsere Untersuchung wurde mit dem elektrischen Plättchenzählgerät Ultra-Flo-100 durchgeführt. Dieses Gerät ermöglichte es auf die Herstellung von PRP zu verzichten und EDTA-Vollblut direkt zu untersuchen.
In der Abb.18 ist der Tagesverlauf des Thrombocytenkonz. dargestellt. Es ist weder bei den weiblichen noch bei den männlichen Probanden eine circadiane Rhythmik zu erkennen. Auffallend ist , daß die Werte der männlichen Probanden regelmäßig höher liegen als die der weiblichen. Trennt man die Werte nach Einzelpersonen auf, zeigt sich eine deutliche Variationsbreite der Thrombocytenzahl.(s. Abb.19) So hat eine Probandin Werte um 170 Tausend/mm^3, während ein anderer Proband Werte um die 330 Tausend/mm^3 aufweist. Diese recht große Breite der noch als normal zu bezeichnenden Thrombocytenzahl kann dazu geführt haben, daß sich rein zufällig mehr Frauen mit niedrigen Thrombocytenwerten im Kollektiv befanden. (s. Abb.19 Probandin A.S und E)

Abschließend wurde der ß-Thromboglobulinspiegel im plättchenarmen Plasma bestimmt.
Das ß-Thromboglobulin ist ein Protein mit dem Molekulargewicht von 35800 Dalton. Es ist mit dem Plättchenfaktor 4 und anderen Stoffen in der α-Granula der Thrombocyten gespeichert, und wird nicht, wie bei anderen Thrombocyteninhaltsstoffen vermutet, aus dem Plasma aufgenommen, sondern ist ein plättchenspezifisches Produkt.
Die biologische Funktion des ß-Thromboglobulin konnte bisher noch

nicht geklärt werden. Es wird zusammen mit dem Plättchenfaktor 4 ausgeschieden, und soll ein Maß für die in vivo ablaufende Aggregation sein (LUDLAM 1975). Die Halblebenszeit im Plasma beträgt ca. 100 Minuten.
In unserer Untersuchung wurde der Tagesgang des β-Thromboglobulinspiegels bei 16 gesunden Probanden bestimmt.
In Abb. 20 ist der Tagesverlauf der β-TG dargestellt. Höhere Werte als zu anderen Tageszeiten sind in den frühen Morgenstunden (8 Uhr) und spät nachts (2 Uhr) festzustellen.
Wie auch in anderen Untersuchungen (BENDER 1979) ist eine starke Streuung der Einzelwerte zu verzeichnen (s. Abb. 21).
In Abb.22 sind die unterschiedlichen Verlaufsformen der β-Thromboglobulinkonzentration im Tagesgang anhand von vier Probanden dargestellt.
Eine circadiane Rhythmik kann auch hier, auf Grund der hohen Standardabweichung nicht mit Sicherheit festgestellt werden.

Bei den untersuchten Männern und Frauen konnte bei keinem Parameter der durchgeführten Thrombocytenfunktionstests eine circadiane Rhythmik nachgewiesen werden.
Die zu unterschiedlichen Tageszeiten ermittelten Laborwerte sind somit vergleichbar. Auch in der Therapie mit thrombocytenbeeinflussenden Medikamenten ist zu jeder Tageszeit eine gleiche Wirkung zu erwarten.
Bei dem jetzigen Stand der Funktionstests erscheinen weiterführende Untersuchungen zur circadianen Rhythmik nicht sinnvoll.

ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit gingen wir der Frage nach, ob beim Menschen eine circadiane Rhythmik der Thrombocytenfunktion existiert oder nicht.
Untersucht wurden 16 gesunde Probanden im Alter von 17 bis 29 Jahren. Acht Probanden waren Frauen, acht Männer.

Neben der Thrombocytenzahl wurden folgende vier Parameter der Thrombocytenfunktion untersucht: Der Formwandel der Thrombocyten, der Plättchenaggregationstest III, die kollageninduzierte Aggregation und die β-Thromboglobulinkonzentration.

Eine Tagesperiodik konnte bei allen erhobenen Tests nicht nachgewiesen werden.

Somit ist die Vergleichbarkeit von zu verschiedenen Tageszeiten durchgeführten Labortests gewährleistet. Auch in der Therapie ist zu jeder Tageszeit mit einer gleichen Wirkung zu rechnen, sofern eine Beeinflussung der Therapie durch andere, nachgewiesene circadiane Rhythmen ausgeschlossen werden kann.

Anlage

Die nachfolgenden Wertetabellen wurden von einem TRS-80 Modell 1 Computer der TANDY COPORATION FT. WORTH USA aufgestellt, und von einem CENTRONICS 737.2 Drucker der Fa. CENTRONICS data computer corporation Hudson, New Hampshire USA ausgedruckt.

BEZEICHNUNGEN DER TESTS:	SUBTESTS: ANZ.:	NR.:	BEZEICHNUNG:
KOLLAGEN INDUZIERTE AGGREGATION	4	0	ALPHA 1
		1	ALPHA 2
		2	TIME REACTION
		3	MAX. AMPLITUDE
PAT 3	2	4	ALPHA 1
		5	MAX. AMPLITUDE
BETA TG	1	6	---
THROMBOZYTEN IN TAUSEND	1	7	---
FORMWANDEL	3	8	0 MIN
		9	5 MIN
		10	15 MIN

TEST: KOLLAGEN INDUZIERTE AGGREGATIO

UBTEST: ALPHA 1

VERS.- NR.:	ZEITPUNKTE: 08.00	11.00	14.00	17.00	20.00	23.00	02.
1	6.50	13.50	11.50	14.50	15.50	14.00	17
2	17.00	16.00	15.00	26.00	14.00	37.00	30
3	13.00	17.00	16.00	15.00	22.00	8.00	17
4	12.00	20.00	12.00	12.00	8.00	8.50	12
5	8.50	23.00	24.00	21.00	28.00	22.00	28
6	20.50	21.00	21.50	23.00	20.00	21.50	20
7	17.50	21.00	21.00	19.00	32.50	7.00	24
8	19.00	20.50	37.00	25.00	18.00	36.00	33
9	33.00	35.00	19.00	34.00	23.00	26.50	24
10	20.50	22.00	23.00	24.00	29.00	25.00	30
11	15.50	17.00	17.00	34.00	17.00	20.00	19
12	5.00	19.00	32.00	30.00	20.50	33.00	38
13	18.00	16.00	12.00	28.00	26.00	24.00	21
14	25.50	29.00	34.50	24.00	25.00	21.00	25
15	11.00	10.00	13.00	15.00	14.00	11.00	8
16	11.50	8.00	12.00	15.00	18.00	28.00	20
M1:	15.88	19.25	20.03	22.47	20.66	21.41	22
MA2:	51.58	43.30	69.05	48.78	41.46	93.27	60
S1:	7.18	6.58	8.31	6.98	6.44	9.66	7
M2:	15.43	18.93	19.43	22.39	20.71	21.32	22
SA2:	27.65	21.03	51.53	37.62	24.72	72.95	35
S2:	5.26	4.59	7.18	6.13	4.97	8.54	5
MAX:	9	9	8	9	7	2	
MIN:	12	16	1	4	4	7	

T: KOLLAGEN INDUZIERTE AGGREGATION

T: ALPHA 2

	ZEITPUNKTE:						
	08.00	11.00	14.00	17.00	20.00	23.00	02.00 UHR
	86.50	86.00	86.50	85.00	82.00	82.00	81.00
	88.00	88.00	88.00	88.00	88.00	88.00	88.00
	88.00	88.50	87.00	88.00	88.00	88.50	88.00
	88.00	87.00	85.00	87.00	84.00	85.50	85.00
	88.50	88.00	88.50	88.50	88.50	88.50	88.50
	88.50	88.00	88.00	88.00	88.00	88.50	88.00
	88.00	88.00	88.00	88.00	88.00	87.50	87.50
	87.50	87.00	87.00	86.50	84.00	86.50	86.50
	85.50	86.50	87.00	87.50	87.50	87.00	87.50
	82.00	88.00	86.00	87.00	87.00	87.00	86.50
	88.00	88.00	87.00	87.00	87.50	87.50	88.00
	88.00	87.00	87.50	87.50	88.00	87.00	88.00
	87.00	88.00	88.00	88.00	87.00	88.00	85.50
	88.00	88.50	88.00	87.00	87.00	88.50	88.00
	87.00	88.00	87.00	88.00	88.00	88.00	88.00
	87.50	87.00	87.00	87.00	87.00	87.50	87.50
	87.25	87.59	87.22	87.38	86.84	87.22	86.97
	2.57	0.54	0.80	0.72	3.42	2.63	3.52
	1.60	0.74	0.89	0.85	1.85	1.62	1.88
	87.54	87.64	87.29	87.46	87.07	87.50	87.29
	0.63	0.36	0.41	0.29	1.88	0.73	1.03
	0.80	0.60	0.64	0.54	1.37	0.85	1.01
	5	3	5	5	5	3	5
	10	1	4	1	1	1	1

#
#
TEST: KOLLAGEN INDUZIERTE AGGREGATI
#
SUBTEST: TIME REACTION
#

PERS.- NR.:	ZEITPUNKTE: 08.00	11.00	14.00	17.00	20.00	23.00	02
1	1.65	2.20	1.15	2.50	2.50	2.60	
2	1.50	1.60	1.50	1.55	1.85	1.70	
3	1.10	1.70	2.40	1.50	1.70	2.00	
4	1.60	1.40	1.60	1.80	1.70	2.20	
5	1.35	1.55	1.35	1.60	1.75	1.80	
6	1.30	1.35	1.50	1.40	1.60	1.35	
7	1.60	0.80	1.05	1.30	1.10	1.05	
8	1.10	1.50	1.40	2.35	1.40	1.60	
9	1.10	1.00	1.00	1.05	0.90	1.40	
10	3.45	1.90	2.65	2.20	2.60	2.60	
11	1.70	1.95	1.40	2.10	1.90	2.40	
12	2.20	2.50	2.80	2.80	2.10	3.15	
13	1.50	1.30	1.50	1.80	1.80	1.70	
14	0.90	1.00	0.80	1.60	1.10	1.20	
15	1.30	1.20	1.00	1.40	1.60	1.40	
16	1.45	1.45	1.60	1.50	1.40	1.45	
M1:	1.55	1.53	1.54	1.78	1.69	1.85	
S1A2:	0.35	0.20	0.34	0.23	0.22	0.35	
S1:	0.59	0.45	0.59	0.48	0.46	0.59	
M2:	1.46	1.51	1.51	1.76	1.68	1.81	
S2A2:	0.09	0.12	0.23	0.15	0.14	0.22	
S2:	0.30	0.35	0.48	0.38	0.37	0.47	
GMAX:	10	12	12	12	10	12	
GMIN:	14	7	14	9	9	7	

#
#
#
#
#
#
#
#
#
#

T: KOLLAGEN INDUZIERTE AGGREGATION

T: MAX. AMPLITUDE

ZEITPUNKTE:						
08.00	11.00	14.00	17.00	20.00	23.00	02.00 UHR
9.60	10.35	10.90	7.80	6.10	5.40	5.20
17.00	17.30	16.10	16.35	13.50	14.40	15.25
15.20	15.40	11.60	14.50	14.80	14.50	14.50
15.40	12.30	8.40	11.20	7.60	9.30	8.20
16.10	15.40	16.80	16.00	18.30	17.20	16.40
14.40	14.15	14.30	15.30	16.30	17.00	14.30
14.20	15.50	17.90	16.40	16.00	14.80	14.15
15.60	15.70	13.70	14.00	8.20	13.60	13.60
10.90	13.80	15.80	16.90	14.60	15.45	16.15
11.00	14.30	13.00	12.65	12.70	12.15	11.70
13.30	14.00	13.50	12.00	12.30	13.00	14.00
15.25	14.80	15.10	14.60	15.60	15.40	15.90
13.40	15.90	15.25	15.30	10.90	13.60	9.70
17.90	18.90	16.15	19.30	14.80	17.40	18.80
12.10	12.50	11.60	13.40	13.30	13.70	12.20
13.70	12.60	12.40	13.80	12.80	13.20	12.90
14.07	14.56	13.91	14.34	12.99	13.76	13.31
5.25	4.26	6.30	7.09	11.26	9.10	11.39
2.29	2.06	2.51	2.66	3.36	3.02	3.37
14.11	14.55	14.01	14.46	13.10	14.09	13.50
3.39	2.10	3.69	2.99	7.16	3.98	5.72
1.84	1.45	1.92	1.73	2.68	2.00	2.39
14	14	7	14	5	14	14
1	1	4	1	1	1	1

TEST: PAT 3

SUBTEST: ALPHA 1

PERS.-NR.:	ZEITPUNKTE: 08.00	11.00	14.00	17.00	20.00	23.00	02
1	8.00	10.50	10.00	10.50	14.00	8.00	22
2	13.00	10.00	8.00	10.00	11.00	20.00	24
3	33.00	27.00	23.50	19.00	10.50	28.50	17
4	10.00	35.00	9.00	8.50	17.00	7.50	13
5	14.50	17.00	16.50	13.00	21.50	9.00	14
6	16.00	19.00	14.00	7.00	25.00	9.00	13
7	13.00	49.00	34.00	17.00	18.00	18.00	33
8	35.50	13.00	9.00	7.50	22.00	0.00	24
9	12.00	5.00	23.00	36.50	17.50	12.00	16
10	12.00	16.00	12.00	14.00	24.00	14.00	12
11	11.00	12.00	11.50	22.00	13.00	24.50	24
12	18.00	17.00	13.50	23.00	13.00	15.00	- - 9
13	12.00	9.00	17.00	21.00	14.00	19.00	7
14	26.00	21.00	11.50	27.50	5.00	25.00	11
15	8.00	6.00	12.00	10.00	8.00	8.00	2
16	9.00	39.00	5.00	4.00	15.00	15.00	15
M1:	15.69	19.09	14.34	15.66	15.53	14.53	11
S1A2:	71.86	156.27	52.56	75.96	32.15	58.68	4
S1:	8.48	12.50	7.25	8.72	5.67	7.66	
M2:	14.82	17.96	13.61	15.00	15.61	14.57	1
S2A2:	47.37	94.86	23.62	43.31	21.66	36.46	2
S2:	6.88	9.74	4.86	6.58	4.65	6.04	
GMAX:	8	7	7	9	6	3	
GMIN:	1	9	16	16	14	8	

T: MAX. AMPLITUDE N=12

ZEITPUNKTE:						
08.00	11.00	14.00	17.00	20.00	23.00	02.00 UHR
0.25	0.45	0.30	0.20	0.00	0.20	0.80
0.50	0.30	0.15	0.35	0.40	0.60	1.30
0.30	0.40	0.40	0.55	0.40	0.80	0.60
1.05	1.60	0.40	0.70	1.25	0.30	0.40
0.70	0.45	0.65	0.60	0.90	0.50	0.55
1.30	1.10	1.05	0.90	1.20	0.60	0.70
0.70	0.80	0.50	1.10	0.00	0.00	0.70
0.35	0.40	0.50	0.80	0.90	0.60	0.70
0.50	0.40	0.55	0.50	0.50	0.55	0.70
0.70	0.70	1.00	0.80	0.70	0.90	0.50
1.10	0.75	1.20	1.40	1.15	1.25	0.60
2.10	2.20	1.30	0.90	3.60	3.40	1.40
0.80	0.80	0.67	0.73	0.92	0.81	0.75
0.28	0.33	0.14	0.11	0.90	0.77	0.09
0.53	0.58	0.38	0.33	0.95	0.88	0.30
0.72	0.71	0.66	0.72	0.74	0.63	0.71
0.11	0.15	0.10	0.05	0.17	0.09	0.05
0.33	0.39	0.31	0.22	0.41	0.30	0.22
16	16	16	13	16	16	16
1	2	2	1	1	8	4

BANDEN MIT SPONTANAGGREGATION:

ZEITPUNKTE:						
08.00	11.00	14.00	17.00	20.00	23.00	02.00 UHR
2.95	5.20	8.25	1.65	3.40	0.80	1.00
3.35	0.60	7.60	2.05	6.80	2.10	1.15
12.70	12.60	7.60	9.80	5.30	1.50	0.70
8.00	7.30	7.80	7.80	8.10	8.30	7.00

TEST: BETA TG

PERS.-NR.:	ZEITPUNKTE: 08.00	11.00	14.00	17.00	20.00	23.00	02.00
1	86.00	110.00	100.00	102.00	109.00	74.00	56.0
2	86.00	89.00	104.00	220.00	220.00	220.00	108.0
3	78.00	90.00	84.00	92.00	96.00	90.00	94.0
4	34.00	42.00	46.00	38.00	46.00	52.00	54.0
5	60.00	78.00	78.00	43.00	64.00	86.00	220.0
6	48.00	78.00	90.00	120.00	18.00	56.00	92.0
7	220.00	40.00	60.00	34.00	26.00	30.00	62.0
8	140.00	21.00	126.00	22.00	12.00	22.00	28.0
9	38.00	46.00	44.00	20.00	52.00	14.00	32.0
10	102.00	56.00	16.00	14.00	12.00	16.00	76.0
11	144.00	54.00	46.00	12.00	32.00	10.00	76.0
12	64.00	47.00	68.00	57.00	63.00	72.00	78.0
13	39.00	30.00	36.00	30.00	16.00	12.00	10.0
14	80.00	30.00	54.00	34.00	34.00	62.00	82.0
15	16.00	10.00	12.00	10.00	10.00	10.00	10.0
16	26.00	30.00	66.00	48.00	26.00	34.00	42.0
M1:	78.81	53.19	64.38	56.00	52.25	53.75	70.0
S1A2:	2805.76	800.56	999.05	2991.60	2880.07	2756.73	2466.1
S1:	52.97	28.29	31.61	54.70	53.67	52.50	49.6
M2:	73.21	52.21	63.71	47.57	43.29	45.00	63.5
S2A2:	1366.80	530.95	649.14	1143.65	934.68	825.08	793.3
S2:	36.97	23.04	25.48	33.82	30.57	28.72	28.1
GMAX:	7	1	8	2	2	2	5
GMIN:	15	15	15	15	15	11	13

ST: THROMBOZYTEN IN TAUSEND

ZEITPUNKTE:	08.00	11.00	14.00	17.00	20.00	23.00	02.00 UHR
	254.00	250.00	227.00	248.00	258.00	224.00	202.00
	232.00	251.00	255.00	228.00	246.00	229.00	265.00
	282.00	285.00	285.00	282.00	282.00	286.00	296.00
	211.00	216.00	174.00	198.00	171.00	196.00	208.00
	323.00	331.00	328.00	340.00	341.00	320.00	328.00
	281.00	257.00	276.00	279.00	274.00	289.00	275.00
	259.00	258.00	266.00	259.00	254.00	260.00	265.00
	253.00	257.00	254.00	256.00	261.00	255.00	294.00
	291.00	303.00	321.00	306.00	314.00	324.00	315.00
	196.00	181.00	195.00	194.00	201.00	198.00	156.00
	225.00	225.00	225.00	211.00	227.00	218.00	216.00
	266.00	275.00	307.00	302.00	313.00	309.00	321.00
	298.00	298.00	294.00	304.00	300.00	294.00	302.00
	300.00	297.00	291.00	280.00	288.00	287.00	289.00
	176.00	164.00	161.00	167.00	167.00	176.00	178.00
	185.00	171.00	191.00	175.00	192.00	200.00	182.00
	252.00	251.19	253.13	251.81	255.56	254.06	255.75
	1945.60	2403.50	2759.32	2669.90	2735.73	2371.80	3202.73
	44.11	49.03	52.53	51.67	52.30	48.70	56.59
	252.36	251.71	254.36	251.57	255.79	254.64	257.71
	1412.71	1698.22	2098.09	1929.03	1991.72	1891.32	2524.37
	37.59	41.21	45.80	43.92	44.63	43.49	50.24
	5	5	5	5	5	9	5
	15	15	15	15	15	15	10

TEST: FORMWANDEL

SUBTEST: 0 MIN

PERS.-NR.:	ZEITPUNKTE: 08.00	11.00	14.00	17.00	20.00	23.00	02.0
1	21.00	27.00	25.00	21.00	22.00	26.00	25.
2	25.00	25.00	22.00	21.00	26.00	20.00	20.
3	21.00	21.00	22.00	20.00	20.00	22.00	22.
4	22.00	21.00	22.00	22.00	22.00	20.00	20.
5	21.00	23.00	25.00	26.00	21.00	22.00	27.
6	25.00	24.00	21.00	26.00	25.00	26.00	21.
7	48.00	22.00	54.00	20.00	21.00	20.00	23.
8	26.00	21.00	23.00	26.00	25.00	22.00	23.
9	20.00	26.00	28.00	21.00	28.00	24.00	23.
10	26.00	28.00	27.00	28.00	26.00	27.00	28.
11	26.00	21.00	19.00	25.00	20.00	21.00	26.
12	26.00	25.00	26.00	20.00	20.00	21.00	20.
13	26.00	26.00	27.00	22.00	29.00	22.00	28.
14	27.00	24.00	26.00	21.00	22.00	25.00	28.
15	20.00	28.00	23.00	21.00	17.00	20.00	22.
16	21.00	18.00	21.00	18.00	18.00	21.00	20.
M1:	25.06	23.75	25.69	22.38	22.63	22.44	23.
S1Ä2:	44.06	8.47	63.70	8.25	12.25	5.73	9.
S1:	6.64	2.91	7.98	2.87	3.50	2.39	3.
M2:	23.79	23.86	24.14	22.29	22.57	22.29	23.
S2Ä2:	6.64	5.82	5.82	5.60	8.57	4.53	8.
S2:	2.58	2.41	2.41	2.37	2.93	2.13	2.
GMAX:	7	10	7	10	13	10	1
GMIN:	9	16	11	16	15	2	

ST: FORMWANDEL

EST: 5 MIN

-	ZEITPUNKTE:						
	08.00	11.00	14.00	17.00	20.00	23.00	02.00 UHR
	24.00	27.00	28.00	24.00	25.00	28.00	26.00
	26.00	27.00	22.00	28.00	25.00	24.00	22.00
	23.00	24.00	24.00	20.00	27.00	22.00	37.00
	22.00	26.00	26.00	28.00	27.00	21.00	28.00
	22.00	28.00	23.00	20.00	23.00	24.00	20.00
	39.00	30.00	28.00	38.00	31.00	34.00	28.00
	31.00	23.00	26.00	27.00	24.00	23.00	23.00
	29.00	30.00	26.00	32.00	27.00	25.00	24.00
	26.00	27.00	26.00	28.00	34.00	28.00	24.00
	26.00	32.00	26.00	31.00	28.00	35.00	29.00
	28.00	30.00	30.00	29.00	25.00	28.00	25.00
	27.00	27.00	25.00	23.00	24.00	22.00	21.00
	24.00	22.00	25.00	20.00	27.00	24.00	25.00
	39.00	24.00	24.00	24.00	25.00	23.00	28.00
	23.00	31.00	23.00	25.00	21.00	26.00	27.00
	19.00	20.00	22.00	22.00	24.00	21.00	21.00
	26.75	26.75	25.25	26.19	26.06	25.50	25.50
	31.67	11.80	5.00	24.56	9.80	17.73	17.33
	5.63	3.44	2.24	4.96	3.13	4.21	4.16
	26.43	26.86	25.14	25.79	25.86	25.14	25.07
	20.26	7.98	3.21	14.49	4.44	11.82	7.30
	4.50	2.82	1.79	3.81	2.11	3.44	2.70
	6	10	11	6	9	10	3
	16	16	2	3	15	4	5

TEST: FORMWANDEL

SUBTEST: 15 MIN

PERS.-NR.:	ZEITPUNKTE: 08.00	11.00	14.00	17.00	20.00	23.00	02.0
1	31.00	34.00	28.00	34.00	29.00	36.00	34.
2	27.00	27.00	24.00	26.00	28.00	26.00	27.
3	26.00	24.00	27.00	32.00	30.00	26.00	34.
4	25.00	26.00	28.00	26.00	28.00	28.00	31.
5	28.00	27.00	24.00	25.00	27.00	27.00	27.
6	44.00	32.00	30.00	42.00	32.00	35.00	33.
7	30.00	30.00	34.00	31.00	29.00	30.00	27.
8	34.00	32.00	38.00	32.00	31.00	29.00	28.
9	34.00	38.00	32.00	27.00	37.00	35.00	30.
10	32.00	30.00	30.00	30.00	35.00	34.00	33.
11	32.00	33.00	30.00	38.00	27.00	33.00	29.
12	29.00	30.00	26.00	30.00	25.00	26.00	28.
13	29.00	25.00	26.00	25.00	32.00	30.00	31.
14	39.00	31.00	29.00	30.00	33.00	30.00	31.
15	26.00	30.00	25.00	25.00	26.00	25.00	28.
16	26.00	24.00	22.00	24.00	23.00	26.00	26
M1:	30.75	29.56	28.31	29.81	29.50	29.75	29.
S1A2:	26.47	15.06	16.63	25.63	13.73	14.20	7.
S1:	5.14	3.88	4.08	5.06	3.71	3.77	2.
M2:	30.21	29.36	28.07	29.36	29.43	29.64	29.
S2A2:	14.18	9.48	8.84	15.32	8.26	11.63	5.
S2:	3.77	3.08	2.97	3.91	2.87	3.41	2.
GMAX:	6	9	8	6	9	1	
GMIN:	4	3	16	16	16	15	

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

Aschoff, J. — Zirkadiane Rhythmen des Menschen. Arzneim.-Forsch./Drug Res. 28: 1850 - 1857 (1978)

Aschoff, J., Wever, R. — Spontanperiodik des Menschen bei Ausschluß aller Zeitgeber. Naturwiss. 49: 337 - 342 (1962)

Aschoff, J. — Circadiane Rhythmen im endocrinen System. Klin. Wschr. 56: 425 - 435 (1978)

Bamberg, E., Bauer, O., Herrmann, W., Kroemer, H. — Primärer Formwandel der Thrombocyten in vitro. Blut 37: 327 - 339 (1978)

Bauer, O. — Untersuchung über die Formveränderung der Thrombocyten nach der Blutentnahme bei Gesunden, Gefäßkranken und Patienten mit Hämostasedefekten. Dissertation, Frankfurt/Main (1978)

Bender, N., Ziemen, M., Friedrich, I., Kirchmaier, C. — in.: Praktische Anwendung der Thrombocytenfunktionsdiagnostik. Hersg. H. v. Voss S. 134 - 139 Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1980)

Bender, N., Friedrich, I., Vagt, C.-W., Breddin, K. — Schwankungen des ß-Thromboglobulin im Blut von Diabetikern und gesunden Probanden. Verhandlungsbericht der 25. Jahrestagung der deutschen Arbeitsgemeinschaft für Blutgerinnungsforschung in München: S. 89, Hersg. G. Blümel u. S. Haas, F.K. Schattauer Verlag, Stuttgart (1981)

Breddin, K., Langbein, H. — Über den Einfluß verschiedener Stoffwechselhemmer auf die Thrombocytenfunktion. Thromb. Diath. haemorrh. 10: 29 - 41 (1963)

Breddin, K. Die Thrombocytenfunktion bei hämorrhagischen Diathesen, Thrombosen und Gefäßkrankheiten. F.K.Schattauer-Verlag, Stuttgart (1968)

Breddin, K. Moderne Thromboseprophylaxe. 9. Angiologisches Symposium Kitzbühl S. 3 - 17, 159 - 174 F.K. Schattauer Verlag (1974)

Breddin, K., Grun, H., Krzywanek, H.J., Schremmer, W.P. Zur Messung der "spontanen" Thrombocyten-aggregation, Plättchenaggregationstest III, Methodik. Klin. Wschr. 53: 81 - 89 (1975)

Breddin, K., Krzywanek, H.J., Ziemen, M. Methoden zur Erfassung einer Thromboseneigung oder zur Erkennung arterieller Gefäßprozesse. Therapiewoche 13: 1560 - 1570 (1975)

Breddin, K., et al. Platelets, Recent Advances in Basic Research and Clinical Aspects. Proc. Intern. Symp. on Blood Platelets, Istambul, Turkey 1974 Exc. Med. Intern. Congr. 357: 302 - 314 (1974)

Bünning, E. Die physiologische Uhr Springer-Verlag Berlin Heidelberg (1977)

Bull, B.S., Schneidermann M.A., Brecher, G. Platelet Counts with the Coulter Counter. Amer. J. Clin. Path. 44: 678 - 688 (1965)

Gillmann, H. Einführung in das Thema: Zur klinischen Bedeutung biologischer Rhythmen. Arzneim.-Forsch./Drug Res. 28: 1809 - 1810 (1978)

Kriebel, J. Chronobiology. Hersg.: Scheving, L.E., Halberg, F., Pauly, J.E.: 451 - 459 Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1974)

Kroemer, J. — Über den Formwandel der Thrombocyten nach Blutentnahme in Zitratblut bei Gesunden und bei Patienten mit verschiedenen Krankheitsbildern. Dissertation, Frankfurt/Main (1978)

Kuschinsky, G. — Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie. S. 281 Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1978)

Lommer, D., Distler, A., Nast, H.P., Sinterhauf, K., Walter, U., Wolff, H.P. — Tagesprofile von Plasmaaldosteron, -Cortisol, -Renin, -Angiotensinogen und -Angiotensinasen bei Normalpersonen. Klin. Wschr. 54: 123 - 130 (1976)

Ludlam, C.A., Moore, S., Bolton, A.E., Pepper, D.S., Cash, J.D. — The release of a human platelet specific protein measured by a radioimmunoassay. Thromb. Res. 6: 543 - 548 (1975)

Mertz, D.P., — Tagesrhythmische Schwankungen der Nierenfunktion und einiger endokriner Funktionskreise. Dtsch. med. Wschr. 89: 2327 - 2330 (1964)

Nüsse, U. — Untersuchungen über den Formwandel der Thrombocyten nach der Blutentnahme bei Patienten mit normaler und gesteigerter Plättchenaggregation. Dissertation, Frankfurt/Main (1977)

Reuter, H., Podolsak, I., Hagen, H., Linker, H., Ströder, J., Gross, R. — Investigations on the time dependance of platelet funktions, general methodical investigations. Thromb. Res. 3: 307 - 325 (1973)

Rothman, B.S., Strumwasser, F. — Manipulation of a Neuronal Circadian Oscillator with Inhibitors of Macromolecular Synthesis. Fed. Proc. 7: 2050 – 2055 (1977)

Rubel, C. — Formwandel der Thrombocyten nach Blutentnahme bei malignen Neoplasien, Herzklappenerkrankungen und generalisierten Gefäßprozessen. Dissertation, Frankfurt/Main (1978)

Schweiger, H.G. — Zirkadiane Rhythmen in Einzellern. Arzneim.-Forsch./Drug Res. 28: 1814 – 1818 (1978)

Träger, L. — Steroidhormone S. 96 Springer-Verlag Berlin Heidelberg (1977)

Uessely, S. — Zur Methode des Plättchenaggregationstestes, Behandlung des Blutes zwischen Entnahme und Bestimmung. Dissertatin Frankfurt/Main (1972)

Wever, R. — Autonome circadiane Periodik des Menschen unter dem Einfluß verschiedener Beleuchtungs-Bedingungen. Pflügers Arch. 306: 71 – 91 (1969)

Wiedemann, R., Breddin, K. — in: Mikrozirkulation und Blutrheologie. Hersg.: Müller-Wiefel, H.: 253 – 256 Verlag Gerhard Witzstrock, Baden-Baden, Köln, New York (1980)

Winterhager, A. — Temperaturabhängige Änderungen der spontanen und induzierten Thrombocytenaggregation. Dissertation Frankfurt/Main (1976)

Wisser, H., Doerr, P., Stamm, D., Fatranska, M., Giedke, H., Wever, R.
Tagesperiodik der Ausscheidung von Elektolyten, Katecholaminmetaboliten und 17-Hydroxycorticosteroiden im Harn.
Klin. Wschr. 51: 242 - 246 (1973)

Ziemen, M.
Zeitabhängige Veränderungen der ADP-, Kollagen- und Adrenalin-induzierten Thrombocytenaggregation und ihre Beziehung zur spontanen Plättchenaggregation im PAT III.
Dissertation, Frankfurt/Main (1977)

Zucker, M.B., Borrelli, J.
Reversible Alterations in Platelet Morphology produced by Anticoagulants and by Cold.
Blood9: 602 - 608 (1954)

Herrn Prof. Dr. med. K. Breddin
danke ich für die Überlassung des Themas:

"Untersuchungen zur circadianen Rhythmik
der Thrombocytenfunktion"

und die Leitung der Arbeit, sowie für seine freundliche Unterstützung und wertvollen Hinweise.

Ebenso gilt mein Dank Herrn Dr. med. N. Bender
für seine tatkräftige Unterstützung.

VERZEICHNIS MEINER AKADEMISCHEN LEHRER

Dr. Bechtoldt
Prof. Dr. Bochnik
Prof. Dr. Breddin
Prof. Dr. Contzen
Prof. Dr. Doden
Prof. Dr. Dudziak
Prof. Dr. Encke
Prof. Dr. Fischer
Prof. Dr. Gerchow
Prof. Dr. Glätzner
Prof. Dr. Halberstadt
Prof. Dr. Heinz
Prof. Dr. Heipertz
Prof. Dr. Hövels
Prof. Dr. Hübner
Prof. Dr. Kaltenbach
Prof. Dr. Karcher
Prof. Dr. Klima
Prof. Dr. Knothe
Priv. Doz. Dr. Koch
Prof. Dr. Leonhardi
Prof. Dr. Lieb
Prof. Dr. von Loeweich
Prof. Dr. Lorenz
Prof. Dr. Luff
Prof. Dr. Martin
Prof. Dr. Meier-Sydow
Prof. Dr. Mentzos
Prof. Dr. Milbradt
Prof. Dr. Mondorf
Prof. Dr. Nasemann
Prof. Dr. Naujoks
Prof. Dr. Palm
Prof. Dr. Pannike
Prof. Dr. Pirlet
Prof. Dr. Satter
Prof. Dr. Schoen
Prof. Dr. Schwenzer
Prof. Dr. Schmidt-Matthiesen
Prof. Dr. Schmitt
Prof. Dr. Schoberth
Prof. Dr. Schoeppe
Prof. Dr. Sigusch
Prof. Dr. Starck
Prof. Dr. Stille
Prof. Dr. Taubert
Prof. Dr. Träger
Prof. Dr. Ungeheuer
Prof. Dr. Vetter
Prof. Dr. Weber
Prof. Dr. Winkler
Prof. Dr. Zimmermann
Prof. Dr. Zissler

LEBENSLAUF

Am 14. März 1953 wurde ich , Claus-Wilhelm Vagt, als Sohn des Kaufmanns Werner Vagt und seiner Ehefrau Gisela Vagt geb. Kahl in Frankfurt am Main geboren. Ostern 1959 erfolgte die Einschulung in die Salzmann-Volksschule. Anschließend besuchte ich das Carl-Schurz-Gymnasium in Frankfurt. Dort legte ich im Juni 1971 die Reifeprüfung ab. Da ich nach dem Abitur nicht sofort eine Zulassung zum Medizinstudium erhielt, studierte ich zunächst Geschichtswissenschaften an der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität in Frankfurt.

Am 1.1.1974 begann ich eine Ausbildung zum Krankenpflegehelfer am Klinikum der Universität Frankfurt, die ich am 31.12.1974 erfolgreich abschloß. Hier arbeitete ich bis zum Beginn meines Zivildienstes am 15.9.1975. Diesen leistete ich beim Arbeiter-Samariter-Bund ab, bei dem ich auch zum Rettungssanitäter ausgebildet wurde.

Zum Wintersemester 1976 nahm ich mein Medizinstudium in Frankfurt auf. Im August 1978 bestand ich das Physikum, zwei Semester später den Ersten Abschnitt und im März 1982 den Zweiten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung. Zur Zeit absolviere ich mein praktisches Jahr in den Fächern Chirurgie, Orthopädie und Innere Medizin am Krankenhaus Höchst. Ich beabsichtige im April 1983 mein Medizinstudium mit dem Dritten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung zu beenden.

Frankfurt am Main, den 24.Jan. 1983

Claus-W. Vagt

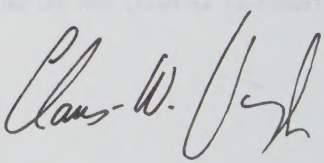
Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die dem Fachbereich Humanmedizin Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel:

"Untersuchungen zur circadianen Rhythmik der Thrombocytenfunktion"

in der Abteilung für Angiologie des Zentrums der Inneren Medizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität unter der Leitung von Herrn prof. Dr. med. K. Breddin ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen medizinischen Fakultät ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Frankfurt am Main, den 24. Jan. 1983

Claus-Wilhelm Vagt